

ÉCOLE DE TECHNOLOGIE SUPÉRIEURE
UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

MÉMOIRE PRÉSENTÉ À
L'ÉCOLE DE TECHNOLOGIE SUPÉRIEURE

COMME EXIGENCE PARTIELLE
À L'OBTENTION DE LA
MAÎTRISE
EN GÉNIE DE L'ENVIRONNEMENT
M. Ing.

PAR
Rita GUEMFING SIMO

DÉVELOPPEMENT D'UNE NOUVELLE MÉTHODE DE TRAITEMENT DES REJETS
INDUSTRIELS POUR L'OPTIMISATION DE LA PRODUCTION DU BUTANOL

MONTREAL, LE 13 SEPTEMBRE 2010

© Tous droits réservés, Rita Guemfing S., 2010.

PRÉSENTATION DU JURY
CE MEMOIRE A ÉTÉ ÉVALUÉ
PAR UN JURY COMPOSÉ DE :

M. Patrice Seers, Directeur de mémoire
Département de génie mécanique à l'École de technologie supérieure

Mme Lynda Bouagache, codirectrice de mémoire
Directrice Recherche & Développement, OCO Technologies Inc.

M. Julien Weiss, président du jury
Département de génie mécanique à l'École de technologie supérieure

M. Yacine BOUMGHAR, Examineur externe
CEPROCQ, à l'Institut de chimie et pétrochimie

ELLE A FAIT L'OBJET D'UNE SOUTENANCE DEVANT JURY ET PUBLIC

LE 31 AOÛT 2010

À L'ÉCOLE DE TECHNOLOGIE SUPÉRIEURE

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier chaleureusement Patrice Seers et Lynda Kharoune, respectivement directeur et Co-directrice, pour leur support financier, leur guidance ainsi que de m'avoir permis de travailler sur ce projet.

Une profonde gratitude est exprimée à Yacine Boumghar et son excellente équipe du CEPROCQ pour l'aide technique, et le support moral lors des expériences en laboratoire.

J'aimerais également remercier ma famille, principalement mes parents, M. Thomas Ibouanga Simo et Mme Monique N'goumadji pour leur prière, leur appui moral et émotionnel, leur encouragement et leur bénédiction.

Sincère remerciement à mon meilleur ami et compagnon Ulrick Serge MBA ENGONGA, pour sa présence dans ma vie, pour sa générosité, sa gentillesse et son soutien.

Enfin, j'aimerais exprimer ma reconnaissance à mes amis (es) : Ladyfatou Ngbayafou, Francine Minang, Joelle Komgom et sa cellule, Pascale Noutsu, Nathalie Tambwe... pour leurs prières et les moments de joies.

DÉVELOPPEMENT D'UNE NOUVELLE MÉTHODE DE TRAITEMENT DES REJETS INDUSTRIELS POUR L'OPTIMISATION DE LA PRODUCTION DU BUTANOL

Rita GUEMFING SIMO

RÉSUMÉ

La production du butanol comme biocarburant ou en remplacement de l'éthanol semble être une option attrayante. En effet, le butanol lorsque comparé à l'éthanol, contient plus d'énergie et, est moins volatile. Le butanol et l'éthanol sont produits par fermentation de produits agricoles tels que le maïs, le blé, etc. Cependant, le principal inconvénient à produire ces bioalcools à partir des produits agricoles est relié à la disponibilité de ces ressources et aussi à leurs coûts de production. D'où l'importance de développer une énergie propre, en quantité suffisante et à des coûts raisonnables, qui ne rentrera pas en concurrence avec les débouchés alimentaires.

Actuellement, certaines études ont été réalisées en utilisant des rejets municipaux, industriels et agro-industriels pour produire des alcools. Cependant, ces rejets sont difficilement fermentescibles et requièrent un traitement au préalable qui aiderait à la solubilisation des sucres donc à leur fermentation. Plusieurs types de traitements ont déjà été testés. Jusqu'à présent, aucun d'eux n'a donné une totale satisfaction du point de vue économique, du rendement en sucres, ou par la présence ou l'absence d'éléments inhibiteurs.

C'est pourquoi dans cette étude, une nouvelle approche de traitement est proposée. Elle consiste à utiliser des résidus industriels, les scories d'aciéries qui ont un $\text{pH} \geq 12$, pour fournir l'alcalinité nécessaire et effectuer un traitement efficace et optimiser la production du butanol à partir des résidus industriels, municipaux ou agro-industriels. Dans ce cas-ci, ce sont les boues piscicoles et rejets de brasserie (la drêche d'orge) qui ont été utilisés.

Les scories sont des résidus d'aciéries, utilisé pour le traitement des rejets industriels, dans différentes conditions opératoires, afin de déterminer les paramètres optimaux. L'évaluation du type de traitement direct ou indirect appliqué aux rejets industriels est aussi déterminée, ainsi que la production du butanol à partir de ces rejets traités. Les résultats obtenus de cette étude ont montré une augmentation d'au moins 20-25% en sucres solubles dans la fraction dissoute dans le cas du traitement de la drêche et de la boue piscicole. Ceci montre que cette nouvelle approche pourrait être attrayante dans le traitement des rejets industriels. Cependant, lors de l'analyse des éléments chimiques tel que l'azote et le phosphore après le traitement, une forte baisse de concentration allant de 64% à 81% a été relevée. Toutefois, d'autres études pourraient être conduites afin de valider les paramètres obtenus avec d'autres types de rejets, avant l'application de ce traitement à une plus grande échelle.

Mots-Clés : Butanol, traitement, scories, rejets industriels, pouvoir alcalin, fermentation

DEVELOPMENT OF A NEW METHOD OF TREATMENT OF INDUSTRIAL WASTES FOR THE OPTIMIZATION OF THE BUTANOL PRODUCTION

Rita GUEMFING SIMO

ABSTRACT

The production of butanol as biofuel or for the replacement of ethanol seems to be an attractive option as butanol contains more energy and is less volatile than ethanol. Butanol and ethanol are produced by fermentation of agricultural products such as corn, wheat, sugar cane, etc... However, the main disadvantage of producing these bioalcohols from agricultural products depends on the availability of the resources and some their production costs.

To prevent using the aforementioned agricultural products, some studies tested other types of wastes such as the municipal, industrial and agro-industrial wastes to produce biofuels. However, these wastes are not easily fermentable and require preliminary treatment to help solubilising their sugars necessary for the fermentation step. Several types of treatments have been presented in the literature but none of them gave results in terms of sugars yield, economic feasibility and presence of inhibitors.

The research presented in this thesis proposes a new approach of treatment of agro-industrial wastes to enable in a subsequent step to ferment the sugar into alcohol. This new technique consists in using steel-slugs to improve the alkalinity of wastes to optimize the butanol production. In this thesis the agro-industrial waste used are sludge from fish farming and the barley slop from a brewery.

Steel-Slags are used under various concentrations in order to determine the optimal parameters of the treatments. The success of the treatment was measured by carrying out fermentation in batch of the treated by-products. The results of this study showed an increase in soluble sugar by 20-25% in the dissolved fraction. The results show that this new approach could be attractive in the treatment of the industrial wastes. However, after the treatment, the chemical analysis of elements such as the nitrogen and the phosphorus show a strong decline of concentration by 64%-81%. Nevertheless, other studies should be carried out in order to validate the process and with different type of waste.

Keywords: Butanol, treatment, steel-slugs, by-products industrials or industrials wastes, alkaline, fermentation

TABLE DES MATIÈRES

	Page
INTRODUCTION	1
 CHAPITRE 1 REVUE DE LITTÉRATURE.....	 4
1.1 LE BUTANOL.....	4
1.2 LE BUTANOL versus L'ETHANOL.....	4
1.2.1 Le butanol comme biocarburant	4
1.2.2 L'éthanol comme biocarburant	6
1.2.3 Aspects environnementaux	7
1.3 LA PRODUCTION DU BUTANOL.....	8
1.3.1 Production par voie chimique	8
1.3.2 Production par voie biologique	9
1.3.3 Les souches <i>Clostridium</i>	10
1.3.4 Les substrats de fermentation.....	13
1.4 LES TYPES DE TRAITEMENTS UTILISES POUR VALORISER LES REJETS.....	 20
1.4.1 Procédé d'hydrolyse chimique.....	21
1.4.2 Procédés d'hydrolyse enzymatique.....	22
1.4.3 Hydrolyse enzymatique	26
1.4.4 Traitements des boues industrielles ou municipaux	26
1.4.5 Les Scories	28
 CHAPITRE 2 MATERIELS ET METHODES	 31
2.1 Stratégies expérimentales du projet	31
2.2 Choix et caractéristiques des matières premières.....	31
2.2.1 Les rejets piscicoles	31
2.2.2 La drêche.....	33
2.2.3 Les Scories	34
2.3 Traitements des rejets piscicoles et de la drêche.....	35
2.4 La fraction soluble des rejets traités ou non.....	36
2.5 Culture et maintenance des souches <i>Clostridium beijerinckii</i>	37
2.6 La fermentation batch	38
 CHAPITRE 3 RESULTATS ET DISCUSSION	 41
3.1 RESULTATS	41
3.1.1 Caractérisation de la boue piscicole.....	41
3.1.2 Test de titrage des scories tamisés et non tamisés	42
3.1.3 Traitement direct de la boue piscicole avec des scories tamisées.....	47
3.1.4 Caractérisation de la drêche d'orge (résidu de brasserie).	52

3.1.5	Traitement direct et indirect des résidus d'orge (la drêche)	53
3.1.6	Essai de production du Butanol par fermentation en mode Cuvée avec la souche Clostridium Beijerinckii.	58
3.2	DISCUSSION	60
3.2.1	Analyse de la caractérisation des rejets piscicole et de brasserie	60
3.2.2	Evaluation du pouvoir alcalin des scories tamisés et non tamisés.....	61
3.2.3	Étude sur traitements direct de la boue piscicole avec des scories tamisées.....	62
3.2.4	Traitement des résidus de brasserie : la drêche d'orge	65
3.2.5	L'essai de fermentation en mode cuvée avec la souche Clostridium Beijerinckii.....	66
	CONCLUSION.....	67
	RECOMMANDATIONS	69
ANNEXE I	RESULTATS DES ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES DE LA BOUE PISCICOLE	70
ANNEXE II	RESULTATS DE L'ANALYSE PHYSICO-CHIMIQUE DES CO-PRODUITS DE BRASSERIE « LES BRASSEURS DU NORD » : LA DRÊCHE D'ORGE	73
ANNEXE III	RESULTATS DU TEST DE TITRAGE DES SCORIES TAMISES OU NON TAMISES.....	75
ANNEXE IV	RESULTATS SUR LE TRAITEMENT DES BOUES PISCICOLES	79
ANNEXE V	RESULTATS DU TRAITEMENTS DE LA DRECHE D'ORGE	83
ANNEXE VI	RESULTATS DU TEST DE FERMENTATION BATCH AVEC LA SOUCHE CLOSTRIDIUM BEIJERINCKII.....	85
	LISTE DE RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	87

LISTE DES TABLEAUX

	Page
Tableau 1.1 Propriétés du butanol Tirée de (Dürre, 2007; Lee et al., 2008).....	5
Tableau 1.2 Vue d'ensemble des réductions des émissions de gaz à effet de serre Tiré de (Ethanol Information Center, 2000).....	8
Tableau 1.3 Composition des boues piscicoles Tirée de (Roque d'Orbcastel, 2008).....	19
Tableau 1.4 Compositions et teneurs en valeurs nutritives dans la drêche de brasserie Tiré de (Beuker, 2009)	20
Tableau 1.5 Composition chimique moyenne des scories d'aciéries Tiré de (Proctor et al., 2000)	29
Tableau 3.1 Caractéristiques physiques et chimiques des résidus de boues	42
Tableau 3.2 Récapitulatif de l'analyse chimique de la boue piscicole avant et après son prétraitement avec les scories tamisées	52
Tableau 3.3 Caractéristiques physiques et chimiques des résidus d'orge (la drêche) avant prétraitement. (Pour 5,1g/L d'orge moulu ou écrasé).....	53
Tableau 3.4 Analyse de la composition des différents milieux après fermentation	58

LISTE DES FIGURES

	Page
Figure 1.1	La réaction qui prédomine durant la phase acidogénique12
Figure 1.2	La réaction qui prédomine durant la phase solvantogénique13
Figure 1.3	Disposition des différents composés du bois. Tirée de (Thiebaud, 1995)15
Figure 1.4	Structure moléculaire de la cellulose.Tirée de (Kumar et al., 2009; Thiebaud, 1995).....15
Figure 1.5	Formules et structures des sucres (unités monomériques) composant les hémicelluloses. Tirée de (Thiebaud, 1995)16
Figure 1.6	Structure moléculaire des polymères d'alcool constituant la lignine. Tirée de (Thiebaud, 1995)17
Figure 2.1	Schéma illustrant la drêche d'orge avant et après le moulage.....33
Figure 2.2	Schéma illustrant les rejets après le traitement et après la centrifugation.....37
Figure 2.3	Schéma illustrant le barbotage avec de l'azote N ₂ du milieu38
Figure 2.4	Schéma illustrant la fermentation en mode cuvée (batch) des milieux de culture P2 et des rejets traités.40
Figure 3.1	Analyse et comparaison du pH en fonction du temps des scories tamisées et non tamisées.....43
Figure 3.2	Analyse du pH des scories tamisées et non tamisées en fonction du rapport scories-Eau distillée.44
Figure 3.3	pH en fonction du volume de lixiviat ajouté à la boue (scories tamisées) mais aussi en fonction de chaque rapport de concentration S/E.....45
Figure 3.4	pH en fonction du volume de lixiviat ajouté à la boue (scories non tamisées) mais aussi en fonction de chaque rapport de concentration S/E.....45
Figure 3.5	pH en fonction du rapport de concentration scories/boue.47

Figure 3.6	Concentration en carbohydrates de la boue piscicole traitée avec du NaOH 4M et/ou des scories tamisées en fonction de la température.	48
Figure 3.7	Analyse de la demande chimique en oxygène de la boue piscicole après son traitement direct avec du NaOH 4M et/ou des scories tamisées, en fonction du temps.	49
Figure 3.8	Concentration en ammonium du surnageant de la boue piscicole traité avec du NaOH 4M et/ou des scories tamisées, en fonction du temps.	50
Figure 3.9	Concentration en phosphore réactif du surnageant de la boue piscicole traitée avec du NaOH 4M et/ou des scories tamisées, en fonction du temps.	51
Figure 3.10	Variation du pH en fonction de la concentration en masse sèche de la drêche.	54
Figure 3.11	Variation de la demande chimique en oxygène en fonction du type de traitement appliqué et de la concentration en masse sèche de l'orge (g).	55
Figure 3.12	Variation de la teneur en glucose en fonction de la concentration en masse sèche de la drêche et du traitement appliquée.	56
Figure 3.13	Variation de la concentration en phosphore en fonction de la masse sèche en orge et du traitement appliquée.	57
Figure 3.14	Variation de la concentration en ammonium en fonction de la masse sèche de la drêche et du traitement appliqué.	58

LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES

ABE	Acetone, Butanol, Ethanol.
COT _f	Carbone organique Total, fraction filtrée (mg/L)
CFU	Unité formatrice de colonies
CO ₂	Dioxyde de carbone
CO	Monoxyde de carbone
DCO _t	Demande chimique en oxygène, fraction totale (mg/L)
DCO _f	Demande chimique en oxygène, fraction filtrée (mg/L)
E10	Essence ou carburant qui contient jusqu'à 10% d'éthanol
E85	Essence ou carburant qui contient jusqu'à 85% d'éthanol
FAE	Four à arc électrique
FP	Four poche
FOP	Four à oxygène pur
H ₂ SO ₄	Acide sulfurique
H ₂	Dihydrogène
HF	Haut fourneau
MES	Matière en suspension (mg/L)
MVES	Matière volatile en suspension (mg/L)
NH ₄	Ammoniac (mg/L)
NaOH	Hydroxyde de sodium
NO _x	Oxyde d'azote
PO ₄ ³⁻	Orthophosphates ou ion phosphate
S/E	Scories mélangé à de l'eau distillée g/mL
S/B	Scories mélangés à la boue piscicole g/mL
SO ₂	Dioxyde de soufre

LISTE DES SYMBOLES ET UNITÉS DE MESURE

Gallon	Unité de mesure du volume anglo-saxonne, pour les liquides, 1 gallon= 3,785 litres
M	Mole
mM	millimole
mg/L	milligrammes par litres
Psi	Pound per square inch
\$	Dollars
min	minutes ou s : secondes
RPM	Tour/minute
g	grammes

INTRODUCTION

De nos jours, les biocarburants ont acquis un réel statut de complément aux carburants pétroliers. En effet, les politiques énergétiques du début des années 80 ont été marquées par la volonté de trouver des substituts au pétrole et les biocarburants ont fait l'objet, à cet égard, des plus grands espoirs. Initialement utilisés pour leur capacité à réduire les émissions de polluants à la sortie des pots d'échappement des véhicules, certains biocarburants comme l'éthanol sont aujourd'hui développés pour leur bilan positif en matière de rejets de gaz à effet de serre, notamment dans le secteur des transports pour lequel les moyens d'actions apparaissent limités (Frédéric Forges, 2007; His, 2005; Wyman, 1999).

Dans le secteur du transport automobile, l'utilisation des biocarburants dans les moteurs peut se faire sous deux approches : (i) chercher à adapter le biocarburant à des moteurs conçus pour fonctionner avec des dérivés du pétrole (par transformation chimique pour obtenir du biodiesel par exemple ou encore l'utilisation de 5% à 10% d'éthanol); c'est la stratégie visée actuellement (His, 2005); (ii) chercher à adapter le moteur au biocarburant naturel, non transformé chimiquement. Cette dernière approche demande beaucoup de dépenses. Toutefois, on a découvert que le butanol pouvait être utilisé dans les moteurs actuels sans modifications de moteurs (Yang, 2004). En effet, le butanol est un alcool pur à quatre carbones, avec 25 % de plus en énergie par unité de masse de carburant que l'éthanol. Le butanol possède une teneur en énergie semblable à celle de l'essence, et il peut être utilisé comme un carburant de remplacement à l'essence. L'optimisation de la production du butanol apparaît donc comme commercialement et techniquement comme une option attrayante (Dürre, 2007; Yang, 2004).

Au Canada, la demande en énergie est sans cesse croissante, tout comme à l'échelle mondiale. Selon l'Office National de l'Énergie, l'évaluation de la demande totale du Canada en énergie pourrait augmenter de 35 % d'ici 2030 et la plus grande partie de cet accroissement sera assumée par les combustibles fossiles dont l'utilisation génère des gaz à effet de serre (GES) tel que le CO₂ (ONE, 2008). Ces derniers contribuent par leurs propriétés

physiques aux changements climatiques observés aujourd'hui et, en raison de la flambée des prix du pétrole, les biocarburants représentent une alternative énergétique durable. Cependant la production des biocarburants à partir de produits agricoles (grains de maïs, blé etc.) peut favoriser la déforestation, et faire concurrence à l'alimentation. Leur production guidée uniquement par des impératifs économiques peut conduire à de graves conséquences sociales et/ou environnementales. Le recours à d'autres matières premières comme les rejets ou résidus agricoles, industriels ou agro-industriels demeure alors primordial. On a découvert qu'en valorisant les sous-produits des procédés de fabrication, comme les boues agro-industrielles ou industrielles, on pourrait éliminer ou du moins réduire l'accumulation des déchets, pour produire les biocarburants (Grammont, 2006; His, 2005). Ceci permettrait de donner une deuxième vie à ces rejets, de réduire la quantité de déchets envoyés aux sites d'enfouissements ainsi que le coût de production des biocarburants. Les rejets agro-industriels ou industriels comme les résidus de brasserie (la drêche) et les rejets de pisciculture représentent une matière première très intéressante. Car, elles sont très riches en matières organiques disponibles et souvent accessibles, ainsi qu'en nutriments (azote, phosphore et certains oligoéléments), nécessaires à la croissance des microorganismes, producteurs de biocarburants. Toutefois, la valorisation de ces rejets n'est pas souvent facile à mettre en œuvre, à cause du coût élevé du traitement employé et de la présence de certains éléments inhibiteurs à la fermentation.

C'est l'une des principales raisons pour laquelle l'optimisation de la production du butanol à partir de ces résidus est toujours en développement. En effet, l'utilisation de ces rejets requiert un traitement initial adéquat qui faciliterait leur utilisation par les microorganismes. Plusieurs traitements ont été employés jusqu'à maintenant, mais aucun d'eux n'a été concluant. Aussi le présent projet a pour objectif de développer une nouvelle méthode de traitement à base de sous produits industriels, les scories d'aciéries, qui optimiseront le processus de production du butanol à partir de ces rejets.

Pour réaliser cet objectif principal, trois éléments importants sont déterminés :

- Démontrer l'amélioration de la disponibilité des sucres après un traitement avec les scories

- Production du butanol à partir de ces milieux
- Comparer le coût et le traitement des rejets avec les scories et le NaOH

Les scories sont des résidus d'aciéries, qui ont un grand pouvoir alcalin avec un $\text{pH} \geq 12$. Le traitement combiné à de la chaleur, appliqué sur des rejets (piscicoles et brassicoles), sera donc défini comme un traitement thermo-alcalin. Les grandes étapes du projet sont:

- Caractérisation physico-chimique des rejets de pisciculture et de brasserie (Demande chimique en oxygène (DCO), Carbone organique total (COT), glucose ou carbohydrates, azote, phosphore)
- Titration des scories (résidus d'aciéries) indirect et direct ($\text{pH} \geq 10$).
- Optimisation des paramètres d'application du traitement (Température, pH, temps de réaction, avec ou sans agitation).
- Détermination des conditions optimales d'utilisation des rejets comme base pour milieu de culture pour les microorganismes.

Le processus de production du butanol se fera alors suivant les résultats expérimentaux. Pour chacun des rejets piscicoles et de brasserie, une évaluation de la production du butanol en Jar-tests sera effectuée.

Le chapitre suivant va nous aider à voir plus en détails les avantages à produire du biobutanol, par rapport à d'autres biocarburants comme l'éthanol : du point de vue environnemental, fermentation, utilisation de matières premières telles que les rejets agricoles, et agro-industriels. D'autres parts, l'importance de développer une nouvelle méthode de traitement de ces rejets pour accroître leur utilisation dans le processus de production du butanol permet une double valorisation de ces déchets (rejets agro-industriels et scories).

CHAPITRE 1

REVUE DE LITTÉRATURE

Ce chapitre présentera un survol de la bioproduction de butanol : ses avantages, les souches qui le produisent et le processus de production, ainsi que les différents substrats qui peuvent être utilisés lors de cette production. L'emphase est mise d'une part, sur les substrats utilisés dans le cadre des travaux de ce mémoire, et d'autre part, sur les différentes techniques de traitement de la matière première actuellement utilisées, afin de faciliter l'extraction du sucre nécessaire aux organismes produisant le butanol. Étant donné que ce projet a pour but de développer une nouvelle méthode de traitement à base de scories d'aciéries, la revue de littérature présentera également cette nouvelle méthode et les avantages à l'utiliser.

1.1 LE BUTANOL

Le butanol est très utilisé comme solvant dans les industries de produits chimiques et textiles, dans la synthèse organique telle que la base des parfums ou encore comme un diluant pour les peintures. C'est un liquide incolore avec une odeur distincte et sa vapeur a un effet narcotique à de hautes concentrations. Le butanol est totalement miscible avec les autres solvants organiques mais partiellement miscible avec l'eau (Lee et al., 2008). Le prix courant du butanol comme produit chimique est de \$3.50 par gallon (0,925\$/litres), avec un marché mondial de 1,4 billions de gallons par année (Yang, 2004). On s'attend à ce que la demande mondiale augmente considérablement si, le biobutanol peut être produit économiquement.

1.2 LE BUTANOL VERSUS L'ETHANOL

1.2.1 Le butanol comme biocarburant


Le butanol est considéré comme un biocarburant potentiel, car sa teneur en énergie est très élevée, soit 30.662 kJ/L contre 23.415 kJ/L pour l'éthanol. Sa teneur en énergie est proche de celle de l'essence (32.056 kJ/L). Le butanol est six fois moins volatile que l'éthanol et 13,5 fois moins par rapport à l'essence. Il est donc plus sécuritaire à manipuler avec une pression

de vapeur de Reid de 0,33 psi comparée à l'éthanol à 2.0 psi et à l'essence à 4.5 (Dürre, 2007; Ni et Sun, 2009). Le butanol peut être transporté par des canalisations déjà existantes de carburant tandis que l'éthanol est transporté par l'intermédiaire du rail, ou à l'aide d'un camion en raison de sa tendance à absorber des molécules d'eau (Frédéric Forges, 2007; Ni et Sun, 2009). Comme le butanol est partiellement miscible à l'eau, la contamination à l'eau d'un mélange butanol-essence serait moins susceptible de se séparer, ce qui faciliterait l'utilisation du butanol dans les canaux existants et les distributions d'essences (His, 2005).

De plus, une propriété importante d'un carburant est son indice d'octane. Plus l'indice d'octane est élevé, plus le carburant résiste à l'auto-inflammation. Le butanol, avec un indice d'octane de 78 à 96, est donc similaire à l'essence tel qu'illustré au Tableau 1.1 qui présente un comparatif de certaines propriétés des différents carburants.

Les technologies de production de biocarburants à partir des rejets existent, mais il faut les rendre plus attrayantes économiquement pour qu'elles supplantent la production de biocarburant à partir de produits agricoles classiques. Une fois ce but atteint, les biocarburants pourraient plus facilement réduire de façon importante, la dépendance à l'égard des carburants d'origine fossile, mais aussi réduire les émissions des gaz à effet de serre.

Tableau 1.1 Propriétés du butanol
Tirée de (Dürre, 2007; Lee et al., 2008)

Propriétés		Butanol		
Point d'ébullition (°C)	117.7	Structure du Butanol		
Température d'inflammation (°C)	35			
		Propriétés des carburants		
	Butanol	Essence	Éthanol	
Densité d'énergie (MJ/L)	29.2	32	19.6	
Chaleur de vaporisation (MJ/Kg)	0.43	0.36	0.92	
Indice d'octane recherche	96	91-99	129	
Indice d'octane moteur	78	81-89	102	

1.2.2 L'éthanol comme biocarburant

L'éthanol est un alcool liquide, très miscible à l'eau, contrairement au butanol, ayant la formule chimique suivante $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$. Il est utilisé en industrie chimique comme intermédiaire de synthèse et peut être utilisé aussi comme solvant ou désinfectant. L'éthanol peut être obtenu chimiquement par hydratation directe ou indirecte de l'éthylène et aussi biologiquement par des levures telles que la *Saccharomyce cerevisae* lors d'un processus de fermentation. Au Québec et en Ontario, les matières premières utilisées pour produire l'éthanol sont le maïs, alors que le blé est utilisé dans l'Ouest (Frédéric Forges, 2007; Office de l'Efficacité Énergétique, 2007). L'éthanol peut aussi être produit à partir de matières cellulosiques, telles que les déchets agricoles et les déchets de bois, ainsi que d'arbres et de graminées à croissance rapide. Mais ces technologies sont encore à l'étape de développement, et ne sont pas concurrentielles avec les procédés de fabrication classiques comme la fermentation à partir des produits agricoles (Ayhan, 2004; Gregg et Saddler, 1995; His, 2005).

Actuellement, la production d'éthanol au Canada s'élève à environ 600 millions de litres par an (Frédéric Forges, 2007; Office de l'Efficacité Énergétique, 2007). Le Québec a ouvert sa première usine d'éthanol à Varennes. Cette usine, d'une capacité de production de 120 millions de litres de bioéthanol par an, nécessitera ou utilisera, à elle-seule un peu moins de 10 % de la culture québécoise de maïs (CRAAQ, 2008).

L'éthanol dans les véhicules à essence conventionnels

En Amérique du Nord, on mélange l'éthanol à l'essence à des concentrations de 7 à 10% par volume. Tous les véhicules construits depuis les années 80 sont compatibles avec les mélanges de carburant contenant jusqu'à 10 % d'éthanol (E-10) (Frédéric Forges, 2007; Office de l'Efficacité Énergétique, 2007).

L'éthanol dans les véhicules spéciaux produits en usine

Toutefois, l'éthanol peut être utilisé jusqu'à 85% d'éthanol et 15% d'essence (E-85), dans les véhicules spéciaux produits en usine. Ces véhicules peuvent fonctionner avec de l'essence

seulement ou de l'essence avec une proportion d'éthanol pouvant atteindre 85%. Le carburant E-85 requiert un équipement de distribution spécial, ce qui freine l'utilisation de ce carburant au Canada (Office de l'Efficacité Énergétique, 2007).

L'éthanol dans les véhicules diesels

Avec les véhicules diesels, de faibles teneurs d'éthanol peuvent être ajoutées au carburant diesel sans qu'aucune modification du moteur ne soit nécessaire. Cependant, l'utilisation de carburants à haute teneur en éthanol dans les moteurs diesels représente un défi technique particulier. L'un de ces défis est que l'éthanol résiste à l'auto-allumage. Pour utiliser ces mélanges à haute teneur en éthanol dans un moteur diesel, on doit soit modifier le moteur afin d'en améliorer la capacité d'allumage à l'alcool, soit ajouter des agents facilitant l'allumage, dans le carburant (Agarwal, 2007).

1.2.3 Aspects environnementaux

Le butanol et l'éthanol, sont des carburants renouvelables parce qu'ils peuvent être produits à partir des mêmes matières premières. Toutefois, leur contribution à réduire les émissions de gaz à effet de serre varie. Depuis deux (2) siècles, nos sociétés brûlent des quantités sans cesse croissantes d'hydrocarbures fossiles, enrichissant de plus en plus l'atmosphère terrestre en gaz carbonique (CO₂) (Agarwal, 2007). L'effet de serre est alors renforcé, menant à un réchauffement du climat. Les transports sont les plus concernés car, ils dépendent presque uniquement du pétrole, et sont à l'origine de près de 30% des émissions en gaz carbonique. Cette proportion est en constante croissante (Ruch, 2008).

En prenant le cycle complet du combustible, l'utilisation d'un litre de carburant d'Ethanol-10 au lieu d'un litre composé exclusivement d'essence peut réduire les émissions de gaz à effet de serre de 3 à 4 %, si l'éthanol est produit à partir de céréales (grain), ou de 6 à 8 %, s'il est produit à partir de cellulose (Office de l'Efficacité Énergétique, 2007). L'utilisation de l'Ethanol-85 à la place d'un carburant composé exclusivement d'essence peut réduire le taux net des émissions d'au moins 75 %. Mais ce dernier est encore en développement et nécessite des modifications de moteur (Dürre, 2007). En nous appuyant sur les réductions de l'éthanol en gaz à effet de serre (Tableau 1.2) on pourrait en déduire celles du biobutanol. Ainsi sur

une même matière première de base, le biobutanol pourrait fournir des réductions d'émissions qui seront aussi bonnes que l'éthanol. Cependant, aucune donnée n'a encore été confirmée à ce sujet.

Tableau 1.2 Vue d'ensemble des réductions des émissions de gaz à effet de serre
Tiré de (Ethanol Information Center, 2000)

Émissions	Pour une utilisation de 10% d'éthanol	Pour une utilisation de 85% d'éthanol
Monoxyde de Carbone (CO)	Diminue de 25%-30%	Diminue de 25%-30%
Dioxyde de Carbone (CO₂)	Diminue de 10%	Diminue jusqu'à 100% (E100)
Nitrites ou nitrates (NO_x)	5% augmente ou diminue	Diminue jusqu'à 20%
Carbone organique volatil :	Diminue 7%	Diminue de 30% ou plus
Exhaust		
Evaporative	Pas de changement au Canada	Diminue
Dioxyde de soufre (SO₂) et matière particulaire	Diminue	Diminue significativement
Aldéhydes	Augmente de 30-50%	Données insuffisantes

1.3 LA PRODUCTION DU BUTANOL

1.3.1 Production par voie chimique

Chimiquement, le butanol peut être produit par trois processus important à savoir (Dürre, 2007; Lee et al., 2008; Qureshi et Ezeji, 2008):

- La synthèse Oxo (hydroformylation) : le monoxyde de carbone et l'hydrogène sont ajoutés à la liaison double du carbone-carbone à l'aide d'un catalyseur comme le cobalt (Co), le rhodium (Rh) ou le ruthénium (Ru). La première étape produit de l'aldéhyde qui est ensuite hydrogéné pour produire du butanol.
- La synthèse Reppe : ici, le propylène, le monoxyde de carbone et l'eau interagissent en présence d'un catalyseur pour donner directement le butanol à une faible température et à une faible pression.

- L'hydrogénation crotonaldehyde consiste à la condensation de l'acétaldéhyde, sa déshydratation et son hydrogénation.

1.3.2 Production par voie biologique

La production biologique de butanol, connu sous le nom d'Acétone butanol éthanol, a une longue histoire. Après que Pasteur ait découvert la production bactérienne du butanol à partir de sa culture anaérobie en 1861 (Woods, 1986), la production fermentative d'acétone – butanol- éthanol (ABE) a prospéré pendant la première partie du 20ème siècle puis, est devenue après l'éthanol, le deuxième plus grand processus de fermentation industrielle dans le monde. La production commerciale du butanol par fermentation a commencé avec le processus de Weismann (Dürre, 2007; Woods, 1986). Ce processus était basé sur la fermentation de l'amidon de maïs par la souche de Weizmann, *C. acetobutylicum*, pour produire le butanol. En 1914, le développement du butanol fût altéré par la première guerre mondiale, car l'armée britannique demandait la production de la cordite (un explosif en poudre blanche utilisé dans l'artillerie) en grande quantité pour la fabrication de munitions. La production d'ABE a redémarré en Terre Haute en 1920, et la demande pour le butanol a augmenté entre 1924 et 1927. A la fin de l'année 1945, deux tiers du butanol industriellement utilisé étaient encore produit par fermentation aux États-Unis. Cependant, le processus de fermentation d'ABE avait perdu la compétitivité avant les années 1960 en raison de l'augmentation de coûts de matières premières et du progrès de l'industrie pétrochimique, sauf en Russie et en Afrique du Sud, où le substrat et les coûts de la main-d'œuvre étaient bas. Le processus de fermentation d'ABE en Afrique du Sud et en Russie ont continué à fonctionner jusqu'à la fin des années 1980 (Dürre, 2007; Ni et Sun, 2009; Woods, 1986).

Actuellement, les recherches sur l'optimisation de la production du butanol par fermentation se concentrent sur la conversion de résidu agricole et agro-agriculturel en butanol, sur la performance des souches *Clostridium* productrices de butanol, ainsi que sur les techniques de récupération du butanol.

1.3.3 Les souches *Clostridium*

Les souches *Clostridium* solventogéniques produisent des solvants comme l'Acétone, de l'isopropanol, du butanol, et de l'éthanol. Capables de produire des produits chiraux (dont la structure moléculaire n'est pas superposable à son image dans un miroir) et de dégrader un nombre de produits chimiques toxiques, les *Clostridium* sont des souches en forme de bâtonnets, Gram+, qui poussent en anaérobiose strict et forment des spores lorsque les conditions ne sont pas propices à sa croissance. Ces derniers sont capables d'utiliser une variété de substrat de sucres partant des monosaccharides (pentoses et hexoses) aux polysaccharides, ceci constituant un autre avantage. Leur milieu de croissance est généralement simple, toutefois certains éléments nutritifs comme l'extrait de levure sont requis pour une bonne croissance et une bonne production du butanol (Monot et al., 1982).

Parmi plusieurs *Clostridium* solventogéniques qui ont été découverts, *C. acetobutylicum*, *C. beijerinckii*, *C. saccharobutylicum* et *C. saccharoperbutylacetonicum* sont les producteurs primaires de solvants comme le butanol, l'acétone ou l'isopropanol et l'éthanol (Ni et Sun, 2009). Au départ, ils étaient tous désignés comme *C. acetobutylicum*. Mais (Keis, Shaheen et Jones, 2001) ont trouvé que les membres de ces quatre espèces différaient l'un de l'autre par leur capacité à produire les solvants, par le rendement des solvants et aussi dans l'utilisation de l'amidon et du sucrose (tel la mélasse). Cependant, (Johnson et al., 1997) a montré que seul le groupe de *C. beijerinckii* avait une concentration moyenne de butanol supérieure aux autres groupes. Soit 48mM pour 20g de glucose par litre, comparé au groupe *C. acetobutylicum* dont la concentration moyenne de butanol produit est de 9.0 mM, alors que le groupe *C. saccharobutylicum* produit 38,5mM et le groupe *C. saccharoperbutylacetonicum* produit 30mM.

Toutefois, seulement deux de ces 4 espèces sont les plus étudiées à savoir *C. acetobutylicum* et *C. beijerinckii*. *Clostridium. acetobutylicum* possède un large plasmide qui porte les gènes pour la solventogénèse (Zverlov et al., 2006). La perte de ce plasmide cause une instabilité menant à la dégénération de la bactérie durant une longue fermentation, caractérisée par l'accumulation des composés acides due à l'absence du Switch (changement) vers la

solventogénèse. Tandis que chez *C. beijerinckii*, les gènes solventogéniques sont localisés sur le chromosome, d'où l'absence d'instabilité. Cependant, la dégénération observée avec les souches *C. beijerinckii*, pourrait avoir une autre cause comme la toxicité du butanol, par exemple (Lee et al., 2008).

Un fait typique des *Clostridium* productrices de solvant tel que le butanol, est la fermentation biphasique dont les grandes étapes sont illustrées à la Figure 1.1 et 1.2 tirée de (Lee et al., 2008; Woods, 1986)). La première phase constitue la phase acidogénique durant laquelle des acides majeurs tels que l'acétate et le butyrate sont produits, ainsi que l'hydrogène et le dioxyde de carbone. Cette phase se produit pendant la phase de croissance exponentielle (Figure 1.1). La seconde phase est la phase solventogénique durant laquelle les acides produits sont réassimilés et utilisés pour la production de l'acétone, de l'éthanol et notamment du butanol. Cette phase arrive juste avant la phase de la formation des spores (Figure 1.2). Le problème est que ces microorganismes mettent plusieurs de leurs ressources pour survivre et pour se reproduire (Arnold, 2008). Le butanol est produit comme un sous-produit métabolique, dont le rendement est relativement bas. Historiquement, la fermentation d'ABE produisait l'acétone, butanol et l'éthanol dans un ratio de 3 :6 :1 respectivement, soit ~20g/L de solvants. Mais depuis, grâce à certaines modifications génétiques, la souche *Clostridium beijerinckii* BA101, une souche mutée hyperamylotique, produit lors de la fermentation ABE, un ratio de 3 :16 :1 d'ABE respectivement. Soit une concentration de 33g/L de solvants (Dürre, 2007).

Les souches *Clostridium*, produisant le butanol, comprennent une série de catalyseurs qui capturent le glucose et le convertissent en pyruvate, lequel est une source majeur d'énergie pour la cellule. Le pyruvate devient un intermédiaire dans la voie biochimique qui est commune à la production du butanol et de l'éthanol. Cependant, la production de l'éthanol à partir du pyruvate se fait juste en deux étapes tandis que la production du butanol est longue, et le processus est torturé par l'implication de plusieurs intermédiaires qui coûtent énormément à la cellule en terme d'énergie et de catalyseurs (Figures 1.1 et 1.2) (Arnold, 2008). Un autre problème, plus critique, est la toxicité des solvants (butanol, acétone,

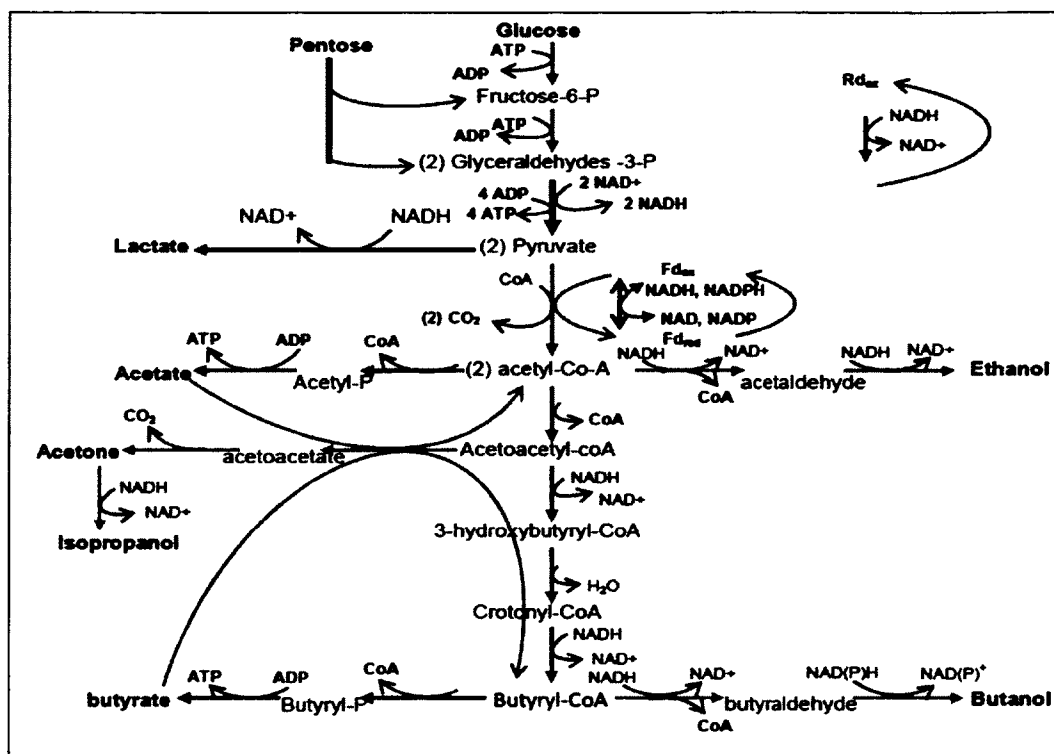


Figure 1.2 La réaction qui prédomine durant la phase solventogénique de *Clostridium acetobutylicum*.

Tiré de (Lee et al., 2008; Woods, 1986)

1.3.4 Les substrats de fermentation

Le butanol peut être fabriqué, à partir de produits de l'agriculture tels que le maïs, la betterave, la canne à sucre, le blé,... Toutefois, le principal inconvénient de produire ce biocarburant à partir des produits agricoles est la disponibilité de ces ressources et aussi leur coût de production. Ces derniers sont les facteurs importants qui influencent le coût des biocarburants (Qureshi et al., 2008; Qureshi, Saha et Cotta, 2008). Il est donc primordial de pousser les recherches plus loin, pour une énergie propre, à quantité suffisante et à des coûts raisonnables, qui ne rentreront pas en concurrence avec les débouchés alimentaires.

Aujourd'hui, on a constaté que la valorisation des sous-produits de procédés de fabrication pourrait permettre de réduire le coût de production du butanol et réduire l'accumulation des déchets des sites d'enfouissement. Certains sous-produits ont été déjà testés, à savoir les

résidus industriels, agricoles et agro-industriels comme les tiges de maïs, les pailles de blé, l'enveloppe d'orge, les fibres de maïs, les résidus de papeterie, les pailles de riz, les rejets d'industries d'huile de palme, la pulpe de pomme, le petit lait de fromage (Qureshi, Saha et Cotta, 2007; Woods, 1986).

Les résultats obtenus de ces essais n'ont pas toujours été satisfaisants à cause de la présence d'inhibiteurs, du type de traitement appliqué ou encore du coût de ce dernier. Toutefois, (Qureshi et al., 2008) ont démontré que l'hydrolysât de certains résidus prétraités pouvait être fermenté en butanol avec peu ou pas d'inhibition. C'est le cas de la paille de blé, dont la fermentation n'a révélé aucune inhibition. Au contraire, celle-ci était plus vigoureuse, plus rapide que le contrôle en fermentation batch. Cependant, rien n'est encore clarifié à savoir ce qui peut rendre la paille de blé comme un substrat de choix pour la production du butanol (Qureshi et al., 2008).

La complexité de la composition de certains résidus agricoles ou agro-industriels influence beaucoup le type de traitement appliqué et le coût de ce dernier. Ces résidus sont souvent constitués essentiellement de matières lignocellulosiques qui contiennent trois principales composantes à savoir la lignine, la cellulose et l'hémicellulose (Grammont, 2006; Gregg et Saddler, 1995).

La biomasse lignocellulosique est l'une des ressources renouvelables les plus abondantes sur terre et la moins coûteuse (Gregg et Saddler, 1995). Sa conversion en butanol à usage carburant pourrait permettre de subvenir à une partie des besoins énergétiques, qui ont été couverts jusqu'à présent par les produits dérivés du pétrole, générant ainsi de nouvelles opportunités pour le monde agricole. Les substrats considérés sont très variés, puisqu'ils concernent à la fois les substrats ligneux (feuillus et résineux), les sous-produits de l'agriculture (paille) ou ceux des industries génératrices de déchets lignocellulosiques (industries agroalimentaires, papeteries, brasserie) (Ballerini, 2006, p. 264; Frédéric Forges, 2007; Gregg et Saddler, 1995). La première composante de cette biomasse est la cellulose. C'est le constituant le plus important car il représente 35 à 50% de la matière sèche. Sa

structure en grande partie cristalline lui donne une certaine rigidité. Le degré de polymérisation (nombre de monomères présents dans la macromolécule) de la cellulose varie de 100 à 14000 (Ballerini, 2006). Les groupements abondants d'hydroxyles (-OH) sont responsables du comportement physico-chimique de la cellulose car ils sont capables de former deux types de liaisons hydrogène (O-H) selon leur position dans l'unité de glucose. Ces liaisons peuvent être soit du type intramoléculaire (entre deux fonctions hydroxyles adjacentes présent dans la même chaîne de cellulose), ou encore du type intermoléculaire (entre deux fonctions hydroxyles issues de deux chaînes adjacentes). Les liaisons (O-H) du type intermoléculaires sont responsables de la formation de microfibrilles rigides et insolubles, entrelacées dans une matrice d'hémicelluloses et de lignine tel qu'illustré à la Figure 1.3 alors que la Figure 1.4 présente la structure chimique de la cellulose (Ballerini, 2006).

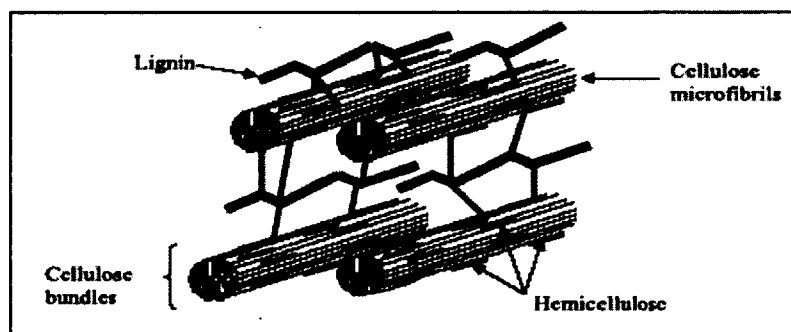


Figure 1.3 Disposition des différents composés du bois.
Tirée de (Thiebaud, 1995)

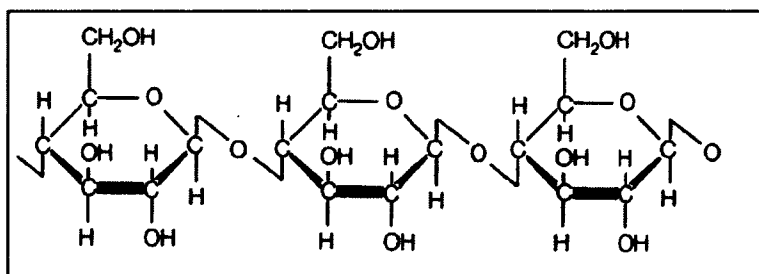


Figure 1.4 Structure moléculaire de la cellulose.
Tirée de (Kumar et al., 2009; Thiebaud, 1995)

Les hémicelluloses représentent la deuxième composante. Ce sont des polysaccharides constitués de molécules complexes à courtes chaînes ramifiées ou linéaires, à base de monomères en C₆ (hexoses) ou en C₅ (pentoses ou sucres à 5 atomes de carbone). Elles constituent 15 à 35 % de la matière sèche suivant les essences de bois ou le type de résidu. Avec des chaînes plus courtes tel qu'illustré à la Figure 1.5, que celles de la cellulose et un degré de polymérisation moyen de 150, les hémicelluloses se déposent dans les espaces libres laissés par la cellulose. Elles possèdent un grand nombre de fonctions hydroxyles, mais elles ne forment pas de réseaux cristallins comme la cellulose, ce qui rend leur utilisation plus facile (Ballerini, 2006).

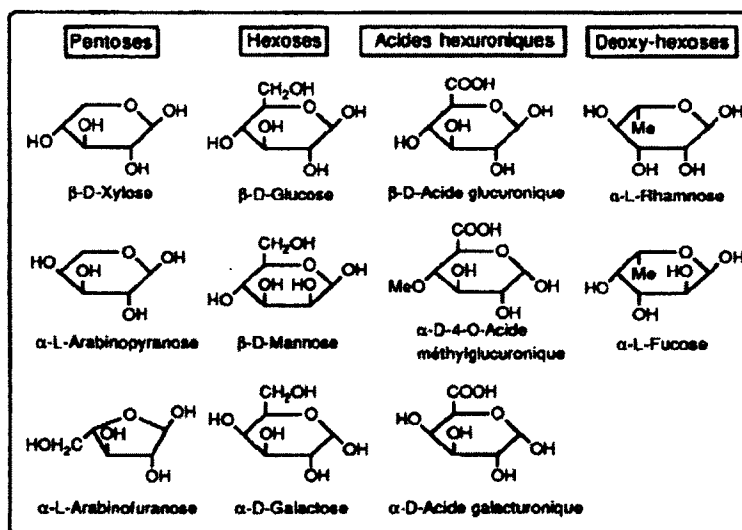


Figure 1.5 Formules et structures des sucres
(unités monomériques) composant les hémicelluloses.
Tirée de (Thiebaud, 1995)

Enfin la lignine, la troisième composante de cette biomasse, est un mélange de polymères d'alcools phénoliques très complexes, contribuant à la résistance mécanique et à la compacité du bois. Ces polymères d'alcools phénoliques appelés : alcool coumarylique, alcool coniférylique et l'alcool sinapylique, illustrés à la Figure 1.6, peuvent être oxydés pour former des radicaux, qui peuvent se coupler par la suite. Les lignines peuvent de cette façon, être ainsi très variées. En outre, on ne peut pas définir une composition exacte car elle est extrêmement hétérogène (Ballerini, 2006).

La lignine bouche également les espaces entre les microfibrilles de cellulose. La lignine peut se déformer sous l'effet de la chaleur et constitue entre 25 à 35% de la biomasse sèche (Ballerini, 2006).

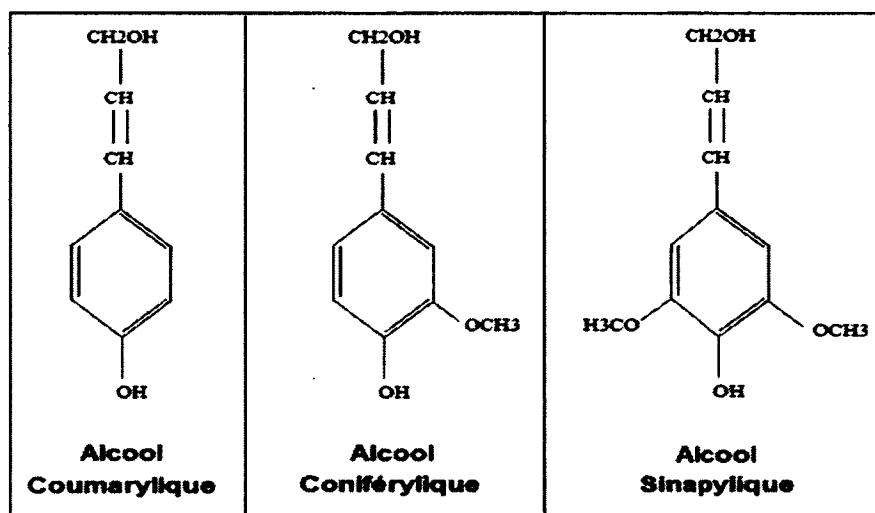


Figure 1.6 Structure moléculaire des polymères d'alcool constituant la lignine.

Tirée de (Thiebaud, 1995)

Dans cette présente étude, les substrats utilisés seront les boues de piscicultures et les résidus de brasserie (la drêche d'orge) à cause de leur disponibilité et de l'accessibilité avec laquelle j'ai pu les obtenir.

1.3.4.1 Les boues de piscicultures

La production piscicole mondiale représente 18% de la production aquatique mondiale (Initiatives, 2004). Celle-ci croît régulièrement notamment avec l'explosion de la production chinoise, mais aussi avec l'augmentation de la population, qui a entraîné un accroissement de la consommation de poissons. L'élevage de poissons a permis de fournir plus de 30% de la consommation mondiale (INRA, 2007). Au Canada, par exemple, la production piscicole a augmenté en 2006 de 22% et continue de s'accroître (Pêches et Océans, 2008). Cette dernière joue un rôle de plus en plus important dans l'économie canadienne. Toutefois, pour garantir cette croissance continue, l'industrie piscicole a besoin de démontrer qu'elle est

écologiquement et économiquement viable. En effet, l'aménagement et l'exploitation d'une pisciculture constituent une source de pollution pour les cours d'eau récepteurs, à cause des rejets piscicoles appelés aussi boues piscicoles (Ouellet, 1998; Roque d'Orbcastel, 2008; Roque d'Orbcastel et al., 2008).

Les boues piscicoles sont des déchets solides et dissout issus de la culture de poissons. Essentiellement constitué de fèces (partie non digestible de l'aliment et pertes endogènes) et de produits d'excrétions (produits finaux de l'utilisation métabolique de la partie digestible des nutriments ingérés), ces rejets participent à l'enrichissement du milieu aquatique (Roque d'Orbcastel, 2008). Lorsque ces boues composées de polluants organiques et inorganiques particulières biodégradables sont transformées en matières dissoutes, elles deviennent beaucoup plus difficiles à traiter, ce qui augmente leur coût du traitement, notamment à cause des matières carbonées, du phosphore dissout et de l'azote ammoniacal. Ces derniers peuvent amener des changements dans les écosystèmes tels que l'eutrophisation, la sédimentation, et des répercussions sur le réseau alimentaire. La gestion de ces boues constitue alors un enjeu majeur (Initiatives, 2004; INRA, 2007; Piedrahita, 2003).

Les rejets solides des poissons se résument aux fèces, aux pertes alimentaires et aux bactéries qui les colonisent. Ces derniers constituent une matière sédimentable plus ou moins compacte, dont la composition chimique (en carbone C, en azote N et phosphore P) et les caractéristiques physiques (taille, densité, teneur en eau,...) dépendent de l'aliment (composition) et du poisson (espèce, stade de développement, fonctionnement physiologique) (Roque d'Orbcastel, 2008). En plus des nutriments, on retrouve aussi d'autres substances telles que le potassium, le chlore, le sodium, etc. Les rejets azotés peuvent représenter aujourd'hui 3,6 à 35% d'azote sous forme solide et 37% à 72% sous forme dissoute. Les rejets phosphatés quant à eux constituent 25 à 70% de phosphore sous forme solides et 1 à 62% sous forme dissoute (Roque d'Orbcastel, 2008). Le Tableau 1.3 présente la composition typique de boues piscicoles.

Tableau 1.3 Composition des boues piscicoles
Tirée de (Roque d'Orbcastel, 2008)

Composition	Teneurs en moyenne dans les Boues piscicoles
Matière en suspension (MES)	71,67g/kg
Matières volatiles en suspension (MVES)	61,63g/kg
Demande Chimique en oxygène (fraction soluble)	3320 mg/L
Potassium	5977 mg/L
Ammoniac dissous	4155 mg/L
Phosphore réactif	199,5 mg/L
Sodium	2429 mg/L
Chlore	1392 mg/L

1.3.4.2 Les rejets de brasserie (la drêche d'orge)

Les rejets de brasserie sont des résidus agro-industriels, issus de la préparation de la bière et qui sont le plus souvent utilisés pour l'alimentation des animaux. Les rejets de brasserie appelés dans notre cas, la drêche, est composé des restes d'orge ou d'enveloppe d'orge. Ce dernier provient après le processus de maltage de l'orge. La drêche est constituée principalement et majoritairement de matières riches en azote, de la cellulose brute, d'une petite quantité de glucose ou d'amidon, des fibres, des lipides, du calcium et du phosphore tel qu'indiqué sur le Tableau 1.4. En plus de ces nutriments, d'autres éléments traces peuvent être retrouvés à savoir du magnésium, potassium, sodium, chlorure, tout dépend du processus de brassage de chaque brasserie. La drêche de brasserie peut se présenter sous forme humide ou sous forme déshydratée (Beuker, 2009). Dans notre cas, nous l'avons obtenu sous la forme humide.

**Tableau 1.4 Compositions et teneurs en valeurs nutritives dans la drêche
de brasserie**

Tiré de (Beuker, 2009)

Pour un kilogramme de matière sèche, on obtient :

Valeurs nutritives	Teneur de la drêche fraîche	Teneur de la drêche sèche
Matières sèches %	22	90
Matières azotées (g)	255	252
Cellulose brut (g)	164	176
Matières grasses (g)	80	88
Sucre (g)	22	22
Calcium (g)	3,8	3,2
Phosphore (g)	6,5	5,3
Magnésium (g)	2,5	1,6

L'étape suivante va consister à montrer les différents traitements appliqués sur des résidus lignocellulosiques et les boues municipales ou industrielles pour leur conversion en sucres fermentescibles.

1.4 LES TYPES DE TRAITEMENTS UTILISES POUR VALORISER LES REJETS

Les principales étapes de la conversion des rejets industriels, agro-industriels ou municipaux en des sucres fermentescibles, peuvent être représentées selon deux variantes : l'une est principalement associée à l'obtention des sucres fermentescibles par voie chimique, l'autre par voie enzymatique à l'aide des cellulases. Dans le premier cas, un fort traitement chimique est appliqué. Dans le second cas, un prétraitement s'avère nécessaire pour faciliter les étapes ultérieures d'hydrolyse par voie enzymatique. Les étapes suivantes montreront les avantages et les désavantages d'utiliser les différents types de procédés de traitement.

1.4.1 Procédé d'hydrolyse chimique

Ce procédé peut utiliser un ou plusieurs réactifs chimiques dans le but d'hydrolyser à la fois les hémicelluloses et la cellulose. Les hémicelluloses sont hydrolysées en premier car elles possèdent une structure hétérogène et de faible degré de polymérisation. Quant à l'hydrolyse de la cellulose, elle est cependant plus difficile à réaliser à cause de sa structure cristalline et de son étroite association avec la lignine (Grammont, 2006; Sun et Cheng, 2002).

1.4.1.1 Hydrolyse à l'acide diluée

L'hydrolyse à l'acide diluée est une technique qui utilise des concentrations modérées d'acides (soit 0,5 à 1,5 % d'acide sulfurique exprimé par rapport à la matière sèche), à des températures comprises entre 180°C et 240 °C, pour une durée d'hydrolyse variant de quelques secondes à quelques minutes. Cependant, l'hydrolyse à l'acide diluée conduit à des rendements faibles car elle permet de récupérer que 60 à 70 % des sucres totaux. De plus, les hydrolysats produits en milieu acide dilué sont difficiles à fermenter, en raison de la présence, en proportion importante, de composés inhibiteurs : furfural, hydroxyméthylfurfural, acide acétique, etc. (Ballerini, 2006; Grammont, 2006).

1.4.1.2 Hydrolyse à l'acide concentrée

L'hydrolyse à l'acide concentrée opère à de faibles températures (par exemple 35°C) pour éviter ainsi la formation de produits de dégradation, et permettre ainsi d'atteindre des rendements de récupération des sucres proches de 100 %. Cependant, l'utilisation des acides tels que l'acide chlorhydrique, l'acide sulfurique (H_2SO_4) et l'acide fluorhydrique ralentissent le procédé à cause du coût associé au réactif, de la difficulté à être recyclé mais aussi de la corrosion des matériaux (Ballerini, 2006; Grammont, 2006; Sun et Cheng, 2002).

L'hydrolyse acide requiert des conditions trop sévères si l'on veut obtenir des rendements acceptables, que ce soit au niveau de la température ou au niveau de la concentration des réactifs acides. Ces conditions entraînent des coûts d'investissement qui pénalisent fortement l'économie du procédé (Ayhan, 2004; Ballerini, 2006). D'autre part, dans ce type de procédé,

la neutralisation du résidu acide à l'aide de la chaux éteinte est nécessaire. Cependant, celle-ci génère des produits peu exploitables ou même des déchets.

1.4.2 Procédés d'hydrolyse enzymatique

La cellulose et l'hémicellulose ne sont pas directement accessibles aux enzymes et par conséquent aux microorganismes (Rosgaard, Pedersen et Meyer, 2007). C'est pourquoi, un prétraitement de la biomasse doit précéder l'étape d'hydrolyse enzymatique. Le prétraitement a pour objectif de modifier les propriétés physiques et physicochimiques des résidus lignocellulosiques (Ballerini, 2006).

Le prétraitement préconisé doit être rapide et efficace à fortes concentrations en substrats, et les pertes de matières doivent être minimales (Rosgaard, Pedersen et Meyer, 2007). D'autre part, la nature du prétraitement doit être compatible avec l'utilisation d'un matériel simple et peu onéreux. Enfin, les coûts de fonctionnement devront être les plus faibles possible, notamment en consommation de vapeur, électricité et réactifs chimiques (Rosgaard, Pedersen et Meyer, 2007).

1.4.2.1 Prétraitements physiques

Les prétraitements physiques ont pour but de réduire le degré de polymérisation de la cellulose et de la lignine, et d'augmenter ainsi, les surfaces accessibles par les enzymes. Un broyage mécanique intense améliore la digestibilité enzymatique de la cellulose, mais les coûts d'investissement et d'énergie ne favorisent pas l'économie du procédé (Grammont, 2006).

1.4.2.2 Prétraitements physicochimiques

Prétraitements par explosion à la vapeur

Au cours de ce prétraitement par explosion à la vapeur, le résidu est porté rapidement à haute température (180°-240 °C) par injection de vapeur sous pression. L'arrêt du traitement est effectué par détente brutale. Les temps de réactions peuvent varier de 10 secondes à

quelques minutes, pour des pressions allant de 10 à 50 bars (Ballerini, 2006). L'explosion à la vapeur est décrite comme une des méthodes de traitement les plus efficaces pour le fractionnement et le prétraitement de la biomasse lignocellulosique, à cause :

- de sa simplicité dans la mise en œuvre d'un procédé batch ;
- de l'absence de réactifs chimiques ajoutés ;
- de son adaptation à toutes sortes de rejets, du point de vue physique.

Cependant, cette technique conduit à la formation de produits inhibiteurs et n'est pas toujours efficace pour toutes les essences de bois ou de résidu (Ballerini, 2006).

Thermohydrolyse

La thermohydrolyse est une cuisson à l'eau sous forte pression. Le procédé fonctionne comme un simple autoclave (procédé discontinu). La température de chauffage est de 200°C à 230°C avec un temps de cuisson de 15mn à 60mn (Ballerini, 2006). Ainsi, la thermohydrolyse apparaît comme une technique de prétraitement particulièrement attractive à cause:

- de l'absence de produits chimiques ajoutés ;
- des taux de récupération en pentoses élevés ;
- de la bonne digestibilité enzymatique de la cellulose prétraitée ;
- de l'absence de broyage préalable du substrat ;
- des concentrations en matière lignocellulosique élevées (> 100g/l) ;
- de l'absence de produits inhibiteurs générés ;
- de la minimisation des déchets issus du prétraitement.

Cependant, cette méthode n'a pas encore été testée sur un pilote industriel, probablement à cause de la difficulté à travailler à haute pression (>50 bar) (Ballerini, 2006).

Prétraitements chimiques

Prétraitements en milieu alcalin

Les conditions habituelles de prétraitement en milieu alcalin sont : NaOH 8 à 12 % massique/matière sèche, 30 à 60 min à 80-120 °C (Ballerini, 2006). Au cours du prétraitement, la lignine est quasi-totalement solubilisée, ainsi qu'une partie des

hémicelluloses. En plus de cela, le produit prétraité présente une excellente susceptibilité à l'hydrolyse enzymatique, due à l'effet de gonflement par la soude des fibres cellulosiques les rendant plus accessibles à l'eau et aux agents d'hydrolyse. L'efficacité du traitement alcalin dépend de la nature du substrat et des conditions de traitement : il est plus efficace sur des résidus agricoles tels que les pailles que sur des coproduits du bois. L'efficacité de l'hydrolyse enzymatique de la cellulose varie avec la concentration de soude utilisée au cours du prétraitement. Après hydrolyse enzymatique, le taux de saccharification de la cellulose est inférieur à 30 % pour une concentration en soude de 2 à 4 %, alors qu'il est compris entre 80 et 90 % pour une concentration en soude de 10 % (Ballerini, 2006).

Cependant, le prétraitement alcalin s'accompagne toujours d'une perte de 30 à 35 % de matière sèche. D'autre part, le coût actuel des réactifs chimiques tels que la soude pénalise fortement le procédé si l'extrait alcalin n'est pas recyclé. En effet, le recyclage de la soude est onéreux et le résidu solide issu du prétraitement doit être lavé et neutralisé avant l'hydrolyse enzymatique, ce qui engendre des coûts supplémentaires (Ballerini, 2006).

Prétraitements à l'acide dilué

les prétraitements à l'acide diluée sont réalisés par chauffage en présence d'acide sulfurique diluée, en proportion de 1 à 3 % par rapport à la matière sèche (Ballerini, 2006). Les températures et la durée de traitement varient suivant les technologies utilisées : soit 200 °C pour des temps de séjour inférieurs ou égale à 10 s (réacteur " piston "), soit 120 à 130 °C pour des temps de séjour de l'ordre de 30 min (réacteur à percolation) (Ballerini, 2006).

Cette technique est efficace sur une gamme très variée de substrats (feuillus, plantes herbacées, coproduits agricoles). Cependant, les sucres étant instables en milieu acide et chaud, ils peuvent parfois se dégrader en des composés furaniques qui inhibent le processus de fermentation. Par ailleurs, la nécessité d'un post-traitement de neutralisation du résidu acide à la chaux éteinte s'impose, aboutissant ainsi à la formation de sulfate de calcium, posant des problèmes de récupération, et générant une faible valeur ajoutée (Ballerini, 2006).

Prétraitement AFEX

Le procédé Afex consiste en un traitement de la matière lignocellulosique avec de l'ammoniac liquide sous pression modérée (15 bar), suivi par une brusque décompression afin d'évaporer l'ammoniac et d'exploser le substrat (Ballerini, 2006). Cette technique est une variante de l'explosion à la vapeur, avec des conditions de températures plus faibles grâce à l'emploi d'ammoniac et un temps de réaction plus long (30min). La température moyenne dans le réacteur est comprise entre 50°C et 80 °C, minimisant ainsi la formation de composés inhibiteurs (Ballerini, 2006). Cependant, il subsiste certains inconvénients liés à l'utilisation de cette technique. Les concentrations élevées en ammoniac, avec nécessité de le recycler plusieurs fois par compression, et les pertes non négligeables d'ammoniac sont préjudiciables sur le plan économique (Ballerini, 2006). Enfin, l'ammoniac est un produit dangereux, et les installations devront être parfaitement étanches afin d'éviter toute perte de produits (Ballerini, 2006).

Prétraitements biologiques

Les prétraitements biologiques font intervenir certains basidiomycètes ou encore des champignons lignolytiques tels que *Phanerochaete chrysosporium*, qui possèdent des enzymes de type peroxydase qui, dans certaines conditions, dégradent activement la lignine. Des souches mutantes dépourvues de cellulases ont été obtenues et proposées pour effectuer une délignification biologique des lignocelluloses. Mais, la lenteur du processus et les difficultés de contrôle des conditions opératoires ont rendu peu probables l'extrapolation de ce type de procédé (Ballerini, 2006; Grammont, 2006).

Procédé Organosolv

Le procédé Organosolv, issu de l'industrie papetière, consiste à dissoudre et extraire dans un solvant organique (méthanol ou éthanol) la fraction lignine et hémicellulose. Le solvant organique est par la suite extrait par évaporation, puis recyclé. La lignine précipitée est récupérée par simple filtration ou centrifugation. En général, le procédé Organosolv permet d'obtenir de bons rendements de récupération des sucres. Le principal inconvénient de cette

technique demeure le coût élevé du solvant (Ballerini, 2006). La nécessité d'un recyclage de 100 % condamne économiquement ce type de procédé.

1.4.3 Hydrolyse enzymatique

L'hydrolyse enzymatique constitue une méthode spécifique, réalisée dans des conditions relativement douces (50 °C), et permettant des rendements d'hydrolyse supérieurs à ceux obtenus à partir des procédés chimiques. C'est la raison pour laquelle l'hydrolyse enzymatique a fait l'objet de nombreux travaux de recherche ces 10 dernières années, dans le but d'optimiser la production d'enzymes et leur efficacité, mais aussi d'améliorer les étapes de prétraitement (Ballerini, 2006; Sun et Cheng, 2002). Un substrat aussi complexe que la biomasse lignocellulosique ne peut pas être hydrolysée totalement par une seule enzyme. L'hydrolyse enzymatique de la cellulose résulte de l'action synergique de trois types d'enzymes : les cellulases (endo 1,4 β -glucanases et exo 1,4 β -glucanases) qui hydrolysent les celluloses en cellobiose et les β -glucosidases qui hydrolysent le cellobiose en glucose (Thiebaud, 1995). L'objectif est avant tout d'améliorer sa rentabilité économique, car elle constitue encore une méthode onéreuse, en raison notamment du coût élevé des enzymes et de la lenteur des réactions (Thiebaud, 1995).

1.4.4 Traitements des boues industrielles ou municipales

Les boues d'origine municipales ou industrielles appelées aussi matières résiduelles, sont souvent utilisées comme amendement en agriculture, comme source de matières organiques et de fertilisants.

Ces boues issues des stations d'épuration, contiennent une quantité de matière organique dissoute et non dissoute, variable selon le type de boue. Elles constituent donc une excellente source de carbone pour la production du butanol. Toutefois, un traitement de ces boues s'avère primordial pour optimiser la production du butanol.

En effet, leur traitement va permettre d'augmenter facilement la quantité de carbone, d'azote et d'autres nutriments (de Lourdes Tirado Montiel, Tyagi et Valero, 2001; Yezza et al.,

2005). Cependant, plusieurs prétraitements ont déjà été employés dans le but d'augmenter la disponibilité de ces nutriments, qui seraient facilement utilisables par les microorganismes; à savoir le prétraitement à l'acide, le prétraitement oxydatif, le prétraitement alcalin et le prétraitement thermo-alcalin.

Selon (Tyagi R. D., 2005), le prétraitement thermo-alcalin des boues rehausse remarquablement la quantité de matière organique dissoute, comparé aux autres traitements comme le prétraitement oxydatif, alcalin ou acide. Durant le prétraitement, la structure des boues subit certains changements chimiques et physiques comme la destruction de gels colloïdaux, la solubilisation des constituants des boues (sources de carbone et d'azote), l'ammonification de nitrogène organique, l'interruption de la structure cellulaire et des floccs de boues. Le prétraitement thermo-alcalin des boues provoque l'hydrolyse des protéines, des polysaccharides, des lipides et d'autres macromolécules intracellulaires secrétées par les cellules de boues interrompues. De plus, les ions sodium ajoutés pour l'hydrolyse thermo-alcalin des boues pourraient aussi jouer un rôle majeur dans le processus d'échanges-membrane (Andreottola et Foladori, 2006).

Comparé au prétraitement thermo-alcalin, le prétraitement oxydatif des boues n'améliore pas de façon significative la disponibilité des nutriments, si l'on compare avec les boues non prétraitées (Yezza et al., 2005). Ceci pourrait être dû à la détérioration de la valeur de matière organique biodégradable, source de carbone et d'azote. En effet, le peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée) est connu comme un puissant agent oxydant ayant une forte habilité à minéraliser la matière organique en dioxyde de carbone et eau. Il détruit les floccs de boues et les microorganismes sont interrompus.

Le prétraitement alcalin des boues selon (Tyagi, 2005), a révélé que le maximum de CFU (unité formatrice de colonie) obtenue, était significativement faible, lorsqu'on utilise les boues non hydrolysées ou les boues prétraitées avec l'alcali. Tandis que, une plus haute production de CFU était obtenue lorsqu'on combinait le traitement thermique et alcalin des boues. Ceci, menant à une solubilisation plus efficace de la matière organique. Le problème

que l'on rencontre (de Lourdes Tirado Montiel, Tyagi et Valero, 2001), avec le prétraitement acide est la présence d'inhibiteurs. Plus grande est la concentration totale des solides suspendus, plus grande est la présence d'inhibiteurs, et difficile sera l'utilisation de la matière organique rendue disponible pour les microorganismes.

1.4.5 Les Scories

Comme le procédé de production de butanol présenté dans ce mémoire comprend le développement d'un nouveau traitement à base de scories, ces derniers sont brièvement présentés. Les scories sont des résidus solides générés par les acides au cours du processus de fabrication de l'acier. La production mondiale des scories d'aciéries peut atteindre les 350 millions de tonnes par an (Bonenfant et al., 2008). Les principaux producteurs sont l'Europe et la Chine avec une production annuelle de 57 et 58 millions de tonnes de scories HF (haut fourneau), respectivement. Au Canada, la production moyenne en 2000, pouvait s'élever à 9 millions de tonnes et compte à présent 17 aciéries. Il existe 4 principaux types de scories et chacun d'eux est désigné selon son procédé de fabrication. Ceci comprend les scories FOP (Four à oxygène pur); les scories FAE (Four à arc électrique); les scories HF (haut fourneau) et les scories FP (Four poche) (Bonenfant et al., 2009). Ces derniers sont non métalliques, selon la définition de l'American Society for Testing Materials (A.S.T.M). Ils sont constitués essentiellement de silicates de calcium et de ferrites associés par fusion à des oxydes de fer, de manganèse, de calcium et de magnésium. Les scories sont inodores, leur aspect et leur couleur varient suivant la composition et le processus de refroidissement lent ou rapide (Proctor et al., 2000; Shi, 2004). La composition chimique des scories varie en fonction des matériaux utilisés pour la fabrication de l'acier. La composition chimique moyenne pour chaque type de scorie est donnée dans le Tableau 1.5 (Bonenfant et al., 2009; Proctor et al., 2000).

Tableau 1.5 Composition chimique moyenne des scories d'aciéries
Tiré de (Proctor et al., 2000)

Composants (% masse)	TYPES DE SCORIES			
	FAE	HF	FOP	FP
CaO	30-40	39-42	42-52	48-52
SiO ₂	10-20	33-39	9-13	8-10
Al ₂ O ₃	< 10	9-13	0,5-3	15-25
MgO	< 10	6-9	1-8	8-10
S	< 0,25	1,2-1,4	~0,25	-
FeO	15-35	~0	15-35	2-4
MnO	< 10	0,1-0,5	3-10	<4
P ₂ O ₅	<2	~0	1,5-4,0	-
Cr ₂ O ₃	<2	~0	< 2	-
TiO ₂	~0	0,4-0,3	~0	-
CaO libre	< 1,5	~0	3-13	-

FAE : four à arc électrique; HF : hauts fourneaux; FOP : fours à oxygène pur; FP : Four poche.

D'après ce tableau, les scories du type HF sont plus riches en oxydes de silicium avec une teneur en oxyde de calcium élevée. Les scories du type FOP et FAÉ contiennent, quant à eux, plus d'oxyde de calcium et de fer et moins d'oxydes de silicium. Les scories FP sont, par contre, composées essentiellement de l'oxyde de calcium et de l'oxyde d'aluminium. On retrouve également dans la composition de ces scories des traces d'éléments comme les oxydes de manganèse, de magnésium, ainsi que des métaux lourds, notamment du chrome (Cr), cadmium (Cd), vanadium (V), et du molybdène (Mb) (Bonenfant et al., 2009).

Des études sur la lixiviation à pH neutre, acide et basique réalisées sur chaque type de scories, ont montré une élévation de $\text{pH} \geq 12$ et aussi qu'il n'y a pas de risque de relargage de métaux (Lewis, 1980). Les scories peuvent ne pas être considérées comme déchets à risque (Proctor et al., 2000). L'alcalinité des scories est liée à leur formation, qui est une réaction entre la vapeur d'eau et l'oxygène, dans les fourneaux de fabrication (Proctor et al., 2000). Après la production de la coulée, les scories sont placées sur des aires de refroidissement. Les scories subissant des intempéries, peuvent alors s'hydrater avec le temps et donner un CaO hydraté pour former le Ca(OH)_2 (Ziemkiewicz, 1998). Ce qui explique leur fort pouvoir alcalin.

Jusqu'à maintenant, les scories d'aciéries sont utilisées essentiellement comme agrégats pour la fabrication du bitume, comme matériaux de remblai et pour stabiliser les berges de rivières pour lutter contre l'érosion et certaines sont certifiées pour utilisation comme amendement calcique des sols (Ziemkiewicz, 1998). Les scories d'aciéries sont aussi utilisées comme matériaux absorbants pour l'enlèvement du phosphore dissout des eaux usées municipales ou industrielles (Bowden et al., 2009) et de métaux lourds (Srivastava, Gupta et Mohan, 1997). Ces derniers peuvent aussi servir comme matériaux de supports pour la formation d'un biofilm microbien efficace.

Dans ce mémoire, ce sont les scories FP (four poche) qui sont utilisées, à cause de la facilité à les manipuler et de leur accessibilité pour le traitement des rejets piscicoles et de brasserie.

CHAPITRE 2

MATERIELS ET METHODES

2.1 STRATÉGIES EXPÉRIMENTALES DU PROJET

Le traitement des rejets agro-industriels ou industriels pour les transformer en sucres fermentescibles est un processus crucial dans le coût et la production du butanol. Cette étude a pour but de développer un traitement thermo-alkalin à partir des scories d'aciéries, des rejets de piscicultures et des résidus de brasserie (la drêche). Ces derniers constituent des matières premières à faible coût, dont l'utilisation pourrait fournir une alternative à l'élimination des déchets solides.

La première étape du projet a consisté à caractériser les matières premières. Par la suite, cette étape a été suivie de la détermination du potentiel alcalin des scories puis par le traitement de la boue piscicole et de la drêche. Le traitement a pour but d'améliorer la disponibilité de la matière organique dissoute. La deuxième étape de ce projet a été la fermentation en mode batch de ces rejets traités par les souches *Clostridium beijerinckii*. Ce chapitre présente donc la méthodologie expérimentale utilisée dans le cadre de ce mémoire.

2.2 CHOIX ET CARACTÉRISATION DES MATIÈRES PREMIÈRES

La première étape consiste à caractériser les matières premières afin de mieux adapter le traitement et de connaître le potentiel en éléments nutritifs qui pourrait théoriquement en être tirés pour la production du butanol. La procédure de caractérisation est explicitement présentée dans chacune des sections.

2.2.1 Les rejets piscicoles

Ces rejets ont été obtenus de l'aquaculture Nordik, une entreprise de pêche et d'aquaculture en Gaspésie. Ces rejets sont issus d'une production piscicole à circuit fermé. Une prise du pH de ces rejets est réalisée avant et après le traitement des boues à l'aide d'un pH

Multimètre / ISE / DO / Temp. Istek PD-600L. Le pH initial des boues était de $6,5 \pm 0,5$ et elles étaient conservées à une température de 4°C. La caractérisation des ces rejets a consisté à déterminer la teneur en sucre par la méthode phenol-sulphuric acid colorimetric method (DuBois et al., 1956) ainsi qu'à l'aide d'un spectrophotomètre UV (Pyc Unicam SP6-400, à 490 nm). Dans le cas des rejets piscicoles, 1mL d'échantillon dilué 5 fois était mélangé à 1mL de phénol + 5mL d'acide sulfurique 98%. Le tout était placé dans un bain-marie à 25°C-30°C pendant 20mn. Une courbe standard de glucose était préparée au préalable dans les mêmes conditions avec les concentrations suivantes: 0,2ml; 0,4ml; 0,6ml; 0,8ml et 1ml de glucose (100mg/L).

Les concentrations en phosphore total et dissous, en azote total et ammoniacal et la demande chimique en oxygène ont pour leur part été déterminés selon le manuel de procédure du spectrophotomètre Hach DR 2500 (Hach, 2009).

Les matières en suspension ont été déterminées pour évaluer la quantité de matière solide, tandis que les matières volatiles en suspension ont été déterminées pour estimer la fraction solide organique qui pourrait être traitée. Ces dernières, après analyse, nous permettront de savoir si la fraction solide de notre échantillon est constituée essentiellement de matières organiques ou non. Pour cela, deux échantillons (duplicata) de 10mL de boue diluée 10 fois sont filtrés sur un filtre de 1,2µm prépesé au préalable, et déposés dans deux coupelles également préalablement pesées avec les filtres, puis placées dans une étuve à 105°C pour une durée de 24 heures. Suite à cela, les coupelles sont refroidies 15min dans un dessiccateur avant d'être pesées à nouveau. Le calcul effectué pour obtenir la quantité de matières en suspension est :

$$MES = \frac{m_1 - m_0}{V} \times 10^6 \quad (2.1)$$

(m_0) étant la masse de la coupelle et du filtre, (m_1) étant la masse initiale de l'échantillon, portée après filtration à 105°C et (V) le volume de l'échantillon filtré. Pour la matière volatile en suspension, les deux échantillons (duplicata) de 10mL de boue qui ont été placés à 105°C,

sont ensuite placés dans un four (Lindberg Hevi-Duty S/B) à 550°C pendant 24 heures. Le jour suivant, les coupelles sont refroidies dans un dessiccateur 15min à 30min avant d'être repesées. Le calcul effectué pour obtenir les matières volatiles en suspension est :

$$MVES = \frac{m_1 - m_2}{V} \times 10^6 \quad (2.2)$$

(m_1) étant la masse initiale de l'échantillon, portée après filtration à 105°C, (m_2) la masse de l'échantillon portée à 550°C et (V) le volume de l'échantillon filtré.

2.2.2 La drêche

La drêche nous a été fournie par la compagnie « Les brasseurs du Nord », une des plus grandes microbrasseries du Canada. La drêche est un coproduit de la production de la bière. Avec un pH ~ 4,5 et conservé à 4°C, la drêche utilisée dans cette étude est caractérisée de la même façon que les rejets piscicoles. Sauf qu'ici, avant chaque utilisation, la drêche humide est séchée à 70°C pendant 24h à 48h dans un incubateur ISO Temp, Oven Model 630°F (Fisher Scientific), puis moulue à l'aide d'un mortier de façon manuelle, pour faciliter le traitement. La Figure 2.1 montre la différence de texture de la drêche avant et après la mouture.

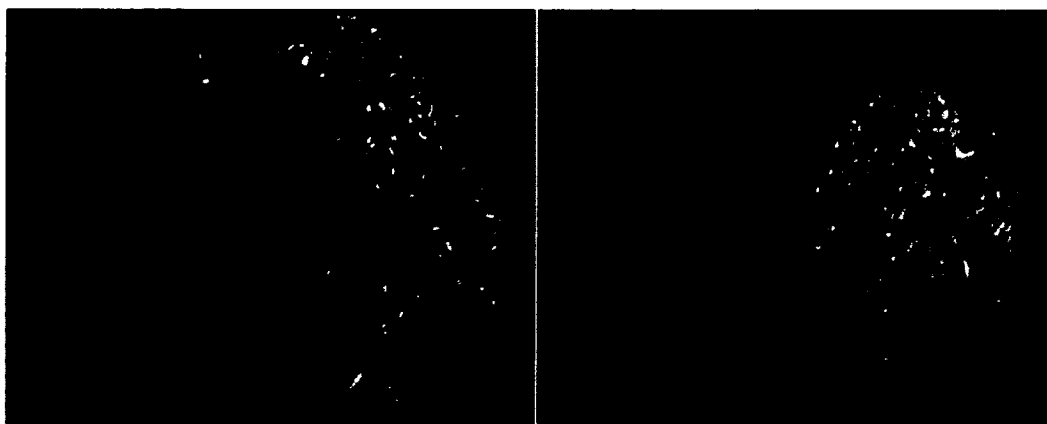


Figure 2.1 Schéma illustrant la drêche d'orge avant et après le moulage.

2.2.3 Les Scories

L'intérêt d'utiliser des scories à la place du NaOH par exemple dans cette étude est dû à leur pouvoir alcalin ($\text{pH} \geq 12$), à leur coût, à une récupération plus aisée après un traitement d'une part, et d'autre part à leur composition chimique qui n'est pas dangereuse du point de vue environnemental (Proctor et al., 2000). Les scories qui ont été utilisées dans cette étude sont de type FP (Four poche), à cause du diamètre de ces particules beaucoup plus petites que les autres types, d'apparence plus sableuse. Les scories nous ont été fournies par Mittal Canada Co. Inc. (ContreCoeur, Qc, Canada). Leur composition chimique moyenne a été présentée dans le Tableau 1.3.

Dans cette section, une étude sur l'utilisation directe ou indirecte des scories FP est réalisée dans le but de déterminer la méthode qui serait adéquate pour le traitement des rejets piscicoles et des résidus de brasserie (la drêche).

Sachant que notre objectif est d'augmenter le pH de la boue à un $\text{pH} \geq 10$, nous avons, dans un premier temps déterminé le temps (t) qui serait nécessaire pour atteindre un pH maximum ou égal à 10, avec une masse fixe de 2 grammes (g) de scories mélangée à 40 mL de volume d'eau distillée. Pour cela, à chaque 10 min, une prise de pH est effectuée pour établir une courbe d'étalonnage. Avant tout usage, les scories ont été tamisées avec un tamis Standard U.S.A de 250 μm , Tyler Incorporated.

Dans un second temps, l'utilisation directe des scories dans la boue a été testée. Les scories sont donc mises en contact avec la boue pendant le temps (t) déterminé auparavant. Cependant, cette étape requiert une évaluation de la quantité adéquate de scories qui pourrait être utilisée pour atteindre un $\text{pH} \geq 10$. Pour cela, différents rapport scories/boue (S/B) ont été testés, soit 1/10, 1/8, 1/5, 1/3 et 1/2. Pour chaque rapport, un pH a été relevé à un temps (t), pour nous permettre d'établir une courbe indiquant le pH obtenu en fonction des différents rapports.

Dans une troisième étape, l'utilisation indirecte des scories a été réalisée en utilisant le lixiviat du mélange scorie-eau distillée pour augmenter le pH de la boue à un $\text{pH} \geq 10$. Dans cette étape, différents rapports Scories/Eau distillée sont employés pour déterminer la concentration idéale de scories qui pourrait être utilisée pour le prétraitement indirect. Les différents rapports sont : 1/10, 1/8, 1/5, 1/3, 1/2. Le lixiviat de chacun de ses rapports sera utilisé après le temps (t) déterminé, pour évaluer le pH de la boue après l'ajout de 10mL de lixiviat. Au temps $t=0$, une prise de pH est effectuée sur la boue et sur le lixiviat de chaque ratio S/E. Pour chaque ratio Scories/Eau distillée (S/E), on obtient donc une courbe indiquant le pH en fonction du Ratio Scories/Eau distillée.

2.3 TRAITEMENTS DES REJETS PISCICOLES ET DE LA DRÊCHE

Le traitement appliqué dans cette étude est un traitement thermo-alcalin. Dans le cas des rejets piscicoles, c'est le traitement direct (Boue + scories) qui est appliqué, dû au fait que la boue est trop liquide. Le traitement est donc réalisé avec 12g de scories qui seront ajoutées à 120mL de boues piscicoles. Ensuite, elles sont agitées à 180 RPM (tours/minute) pendant 1h sur une plaque agitatrice Max Q 2000 Barnstead/Lab-Line. Au bout d'une heure d'agitation, on considère que le temps de réaction débute car le pH ciblé est atteint ($t=0$ après 1h d'agitation). Ceci étant valable pour chaque paramètre. Les différents paramètres qui ont été testés pour le prétraitement sont : la température (22°C, 35°C, 54°C, 102°C, 140°C) et le temps de réaction (15min, 30min, 45min, 60min, 75min). Cependant le pH est fixé par les scories dû à sa fluctuation, et peut se situer dans le cas de la boue piscicole autour de 11 ± 1 . Par contre, dans le cas de la drêche et compte tenu de son acidité, le pH peut se situer autour de 11 ± 5 lorsqu'elle est traitée avec le lixiviat des scories et de 11 ± 1 lorsqu'elle est traitée directement avec les scories.

Dans le cas du traitement de la drêche, les paramètres utilisés sont ceux qui ont montré un meilleur traitement des boues piscicoles à savoir 140°C pendant 75min. Toutefois, le traitement direct et indirect à partir de scories sera effectué dans le cas de la drêche. Cela dit, 12g de scories seront mélangés à 120mL d'eau distillée, puis agité pendant une heure. Le lixiviat des scories est mélangé avec de la drêche séchée à 70°C pendant 24h : c'est le

traitement indirect. Pour le traitement direct, 12g de scories sont mélangés avec la drêche sèche et 120mL d'eau distillée. L'ajout de différentes masses de drêche séchée a été évalué pour déterminer celle qui serait adéquate pour ce paramètre de traitement, soit 0,5g, 1g, 3g, 5g et 8g.

Comme témoin, le traitement au NaOH 4M (hydroxide de sodium 4 mol) a été effectué selon les mêmes méthodes de travail appliquées ci-dessus. Le traitement au NaOH 4M a été réalisé en élevant le pH des boues ou de l'eau utilisée pour traiter la drêche à environ $11,5 \pm 0,5$. A noter que le traitement de boue piscicole et de la drêche a été réalisé dans des bouteilles de 250mL, et était placé dans un incubateur ISO Temp Oven Model 360°F (Fisher Scientific). Une fois le traitement terminé et après refroidissement à la température de la pièce, le pH de la boue piscicole est amené à $6,5 \pm 0,5$ avec une solution d'acide sulfurique H_2SO_4 1N et dans le cas de la drêche, le pH est amené à 6,5 avec une solution de H_2SO_4 ou du NaOH 4M, dépendamment de la concentration en drêche et du pH.

2.4 LA FRACTION SOLUBLE DES REJETS TRAITÉS OU NON

Afin d'obtenir le surnageant (fraction soluble) des boues traités ou non, ces dernières sont filtrées à l'aide d'un filtre de $1,2\mu m$ ou une centrifugeuse. Environ 100mL de lixiviat de boue ou de drêche traitée sont filtrés, le pH étant ajusté à 6,5; puis caractérisé avant d'être autoclavé pour la fermentation. Les conditions d'autoclavage utilisées, sont de $121^\circ C$ pendant 20min.



Figure 2.2 Schéma illustrant les rejets après le traitement et après la centrifugation.

2.5 CULTURE ET MAINTENANCE DES SOUCHES *CLOSTRIDIUM BEIJERINCKII*

Les souches *Clostridium beijerinckii* (DSM 791) ont été obtenues à partir de DSMZ (German Resource Centre for Biological Material), une compagnie allemande reconnue pour sa collection en microorganismes et en culture cellulaire. Pour le développement des souches lyophilisées de *Clostridium beijerinckii* (DSM 791), ces dernières sont cultivées dans leur milieu conventionnel à savoir un milieu de viande préparée (Oxoid CM 81 – Cooked Meat Medium; supplémenté avec 5g/L d'extrait de levure, 5g/L de K_2HPO_4 , 1mg/L de resazurin, 0,4% de glucose, 0,1% de cellobiose, 0,1% de maltose, 0,1% d'amidon soluble et 0,5g/L de cystéine hydrochloride). 100 mL de ce milieu de culture conventionnel est préparé dans des bouteilles de 250mL avec bouchons, puis stérilisé à 121°C pendant 15min, suivi par un refroidissement à température ambiante. Il est recommandé d'utiliser un milieu frais pour la mise en culture des souches de *Clostridium beijerinckii* (DSM 791). Les souches *Clostridium beijerinckii* (DSM 791) sont cultivées en condition anaérobique à 37°C pendant 48 heures dans une jarre anaérobique (système jarre gaspak 150) et une enveloppe génératrice de gaz avec un indicateur d'absence d'oxygène. L'environnement anaérobique dans les bouteilles de 250mL était obtenu en alimentant les milieux de culture d'azote (N_2) pendant 30mn (Figure

2.3). Par la suite, 5 à 6mL d'inoculum de la souche *Clostridium beijerinckii* était injecté dans le milieu stérile à l'aide d'une seringue de 5mL, et placé dans la jarre anaérobique. La maintenance de ces souches a été effectuée sur un milieu P2 préparé dans une bouteille avec bouchon de 250mL. Le milieu P2 contient 60g/L de glucose, 1g/L d'extrait de levure et 1mL de chaque solution stock de (solution tampon, minéral, et vitamine). Ce milieu est également stérilisé à 121°C pour 15min suivi d'un refroidissement à la température de la pièce. La culture est laissée pendant 16-18h à 37°C. Lorsqu'elle est prête, elle servira d'inoculum pour leur utilisation éventuelle dans le surnageant des boues piscicoles traitées ou de la drêche traitée.



Figure 2.3 Schéma illustrant le barbotage avec de l'azote N_2 du milieu de culture conventionnel.

2.6 LA FERMENTATION EN DISCONTINU « BATCH »

La fermentation en discontinu (batch) a été réalisée dans des bouteilles de 250mL, montées sous forme de petits réacteurs (Figure 2.3). Les milieux de culture ont été placés à 37°C pendant 72-96 heures dans une jarre anaérobique de Fisher (avec un catalyseur Gaspak plus $CO_2 + H_2$ ou Gaspak EZ CO_2 , et un indicateur anaérobique) tel que présenté à figure 2.4.

Trois types d'échantillons étaient préparés, fermentés puis analysés. Le premier échantillon (témoin) est le milieu P2 comme décrit. Le deuxième échantillon est le surnageant de la boue piscicole traitée et de la drêche d'orge traitée à 140°C pendant 75min, puis centrifugé à 3000 RPM, pendant 15min. Le dernier échantillon est le surnageant de boue piscicole ou de la drêche traitée dans les mêmes conditions que le précédent mais complété avec du glucose 60g/L, 1g/L d'extrait de levure et de solution stock.

Avant et après la fermentation, la masse cellulaire des souches *Clostridium* est déterminée par la mesure de l'absorption de la lumière, la densité optique (DO) à 600 nm. Cette dernière est une mesure de la turbidité du milieu équivalente à la quantité de lumière diffractée par les cellules et proportionnelle à leurs concentrations. Avant la fermentation, les souches sont maintenues dans le milieu P2 pendant 24h. Un volume de 2mL de ce milieu est prélevé et placé dans 2 eppendorf prepesés (1mL dans chaque eppendorf). L'un des eppendorf servira pour une prise de la densité optique et l'autre sera centrifugé à 3000 RPM, pendant 15mn, pour enlever le surnageant, puis rincez le culot avec de l'eau distillée, et centrifugé encore 15 mn. L'eppendorf contenant le culot est séché à 100°C pendant 24h, puis repesé. Après la fermentation, la même technique pour mesurer la croissance microbienne est employée pour les milieux traités et non traités. A partir de là, le poids sec des souches pourrait être obtenu en faisant la différence des éppendorfs avant et après la fermentation. Et ainsi, évaluer la croissance de la souche *Clostridium beijerinckii* sur le milieu conventionnel ou traité. Un test de glucose, d'azote, de phosphore ainsi que la DCO est aussi réalisé sur les trois milieux avant et après la fermentation. L'analyse de la production du butanol est effectuée après la fermentation par chromatographie gazeuse VARIAN Star 3400, TCD, (colonne 210°C, Injecteur 225°C, détecteur 250°C).

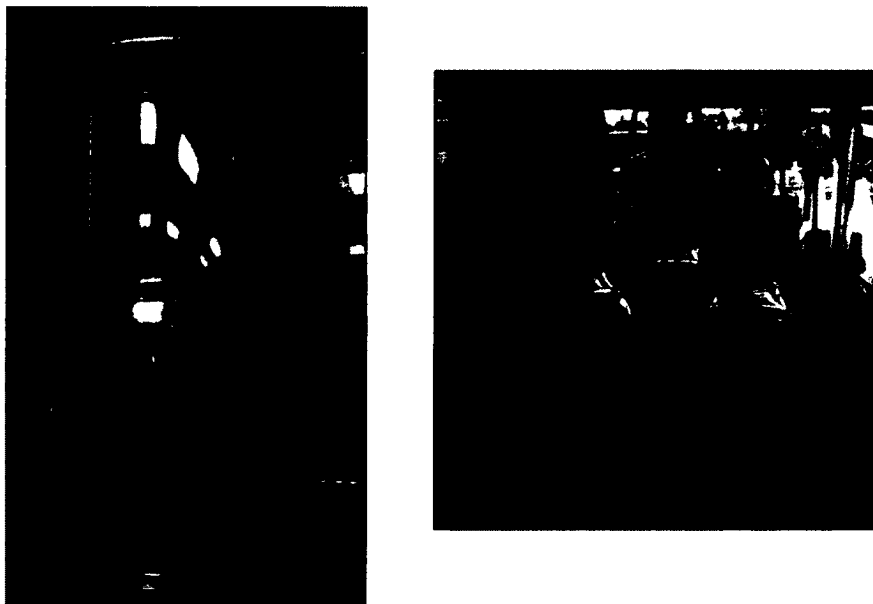


Figure 2.4 Schéma illustrant la fermentation en mode cuvée (batch) des milieux de culture P2 et des rejets traités.

CHAPITRE 3

RESULTATS ET DISCUSSION

3.1 RESULTATS

Cette section débute dans un premier temps par la présentation des résultats de la caractérisation de la boue piscicole utilisée pour réaliser le traitement. Par la suite, les résultats de l'évaluation du pouvoir alcalin des scories tamisées ou non, sont présentés pour évaluer le temps nécessaire pour maximiser le pH et pour déterminer le processus et les paramètres de traitement à utiliser. Les résultats de la caractérisation de la drêche et de son traitement sont aussi présentés dans le but de valider certains paramètres (température, pH, temps de réaction) et de déterminer les proportions de matières sèches qui peuvent être appliquées. Enfin, un essai de fermentation batch est appliqué au milieu de résidus traité pour la production du butanol.

3.1.1 Caractérisation de la boue piscicole

L'analyse physico-chimique de la boue piscicole révèle que cette dernière contient une quantité considérable de matière organique et d'autres éléments (azote et phosphore) pouvant être utilisés comme facteur de croissance pour la culture des souches *Clostridium beijerinckii*. Toutefois, il est possible que certains types de boues ne conviennent pas à la culture de cette souche, à cause de la présence en grande ou faible quantité de certains éléments chimiques tels que le phosphore, l'ammoniac, le nitrate ou des métaux. Le Tableau 3.1 présente les différentes caractéristiques de la boue piscicole qui ont été utilisées durant cette étude. A noter que certaines fluctuations dans sa composition chimique peuvent être observées et le pH de la boue piscicole est d'environ de : $6,15 \pm 0,5$. Les résultats obtenus montrent que les concentrations en phosphore, azote et carbone sont plus élevées dans la partie non filtrée que dans la partie filtrée. Soit par exemple une DCO total (partie non filtrée) de 22945mg/L et une DCO filtrée de 4997 mg/L. Les détails de calculs d'analyse des éléments chimique tels que l'azote, le phosphore, le test de glucose et la DCO sont présentés à l'annexe I. Étant donné que la croissance de la souche *Clostridium beijerinckii* ne requiert

que des éléments solubles et donc, facilement consommables, un traitement de la boue piscicole s'avère alors nécessaire pour favoriser le milieu de croissance. Pour cela, deux méthodes de traitements sont testées dans la section suivante pour déterminer celle qui sera plus convenable pour la croissance de *Clostridium beijerinckii*.

Tableau 3.1 Caractéristiques physiques et chimiques des résidus de boues piscicoles avant prétraitement

Caractéristiques	Concentrations
Caractéristiques Physiques	
Matières solides en suspension (mg/L)	7456,25
Matières solides volatiles en suspension (mg/L)	7093,75
Caractéristiques chimiques	
Carbone organique total (mg/L)	1081
Azote total (mg/L)	780
Azote ammoniacal (mg/L)	324
Phosphore total (mg/L)	1465
Orthophosphates (mg/L)	428
Demande chimique en oxygène	
• Filtré (mg/L)	4997
• Total (mg/L)	22945,8
Teneur en Glucose (mg/L)	
• Boue filtrée	68,5
• Boue Totale	1717,6

3.1.2 Test de titrage des scories tamisées et non tamisées

a) Détermination du temps

Cette étape consistait à évaluer le temps nécessaire pour atteindre un pH supérieur ou égal à 10. Pour cela, 2g de scories sont mélangées à 40mL d'eau distillée, puis agitées sur une plaque agitatrice pendant une heure. À chaque 10min, une prise de pH était effectuée. Selon la Figure 3.1, le $\text{pH} \geq 10$ est atteint et plus stable à partir de 20min. Les détails des données obtenues à cet effet, sont présentés à l'annexe III. Cependant, pour l'ensemble des expériences qui vont suivre, le temps (t) sera évalué après 1h afin de maximiser le pH.

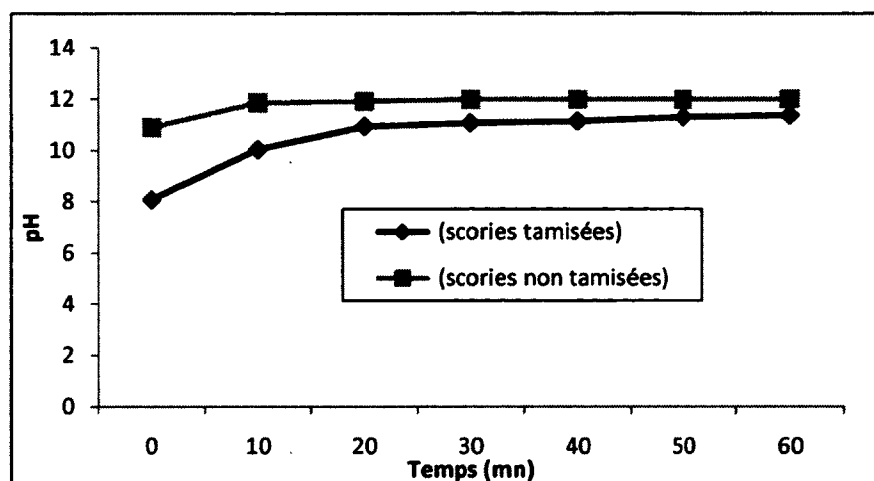


Figure 3.1 Analyse et comparaison du pH en fonction du temps des scories tamisées et non tamisées.

b) Test de traitement indirect avec les scories tamisées ou non tamisées

Dans cette étape, un essai de traitement indirect de la boue est réalisée en utilisant le lixiviat de chaque rapport Scories-Eau distillée ayant atteint un $\text{pH} \geq 10$, pour ensuite l'ajouter à 40mL de boue, pour augmenter le pH de celle-ci. Premièrement, une prise de pH est effectuée sur le lixiviat de chaque rapport de concentration scories/eau distillée (S/E), et ce, après une heure d'agitation, comme il est démontré à la Figure 3.2 et à l'annexe III. Les résultats de la Figure 3.2, qui illustrent l'utilisation des scories tamisées ou non tamisées, montrent que le pH augmente dans les deux cas lorsqu'on augmente le rapport de concentration scories/eau distillée (volume d'eau fixe = 40mL). Cependant, une différence de pH est constatée entre les scories tamisées et non tamisées, soit pour le rapport S/E de 5/40, un pH $\sim 11,6$ est obtenu avec les scories tamisées alors qu'un pH ~ 12 est obtenu avec les scories non tamisées.

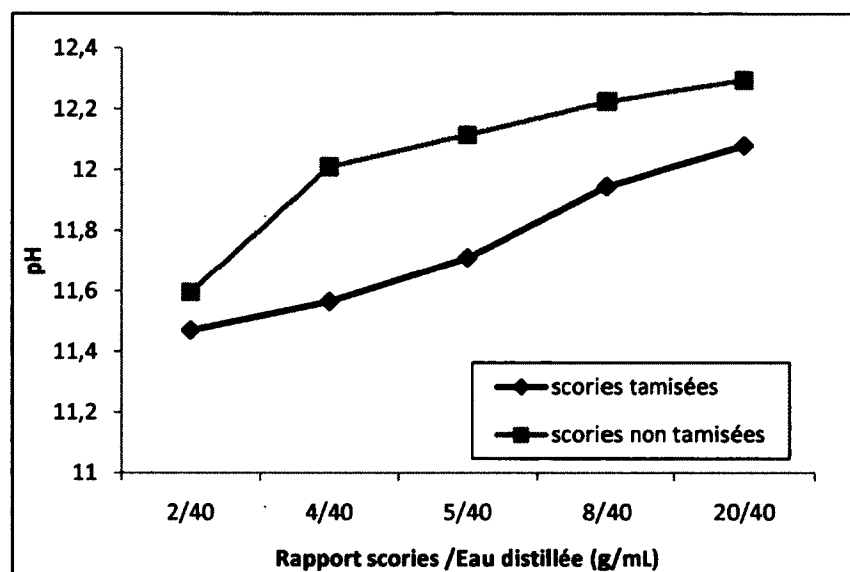


Figure 3.2 Analyse du pH des scories tamisées et non tamisées en fonction du rapport scories-Eau distillée.

Deuxièmement, un volume de 10mL, puis 20mL et enfin de 30mL de lixiviat pour chaque rapport de concentration scories/eau distillée sont ajoutés à 40mL de boue piscicole. A chaque volume ajouté, une prise de pH est effectuée comme illustré sur les figures 3.3 et 3.4, quant aux détails des données, ces derniers sont présentés à l'annexe III.

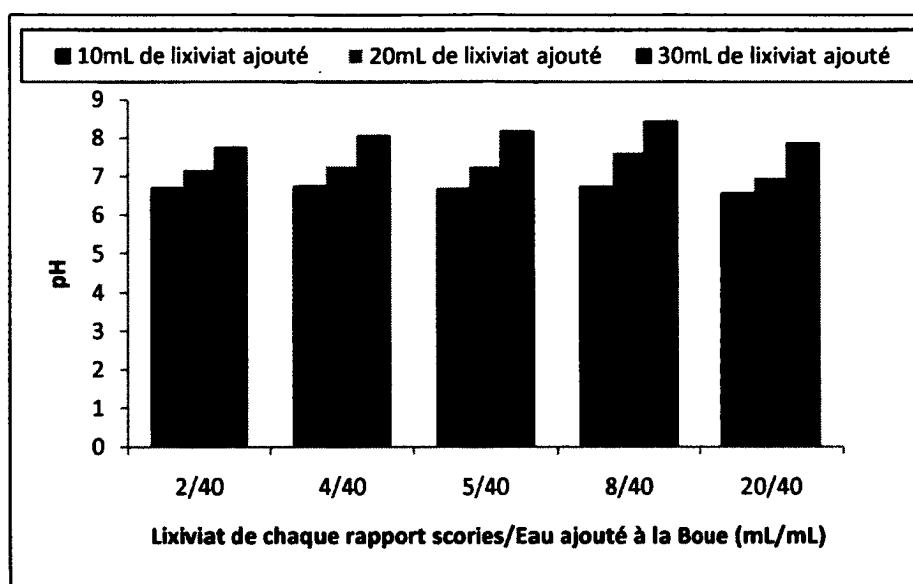


Figure 3.3 pH en fonction du volume de lixiviat ajouté à la boue (scoires tamisées) mais aussi en fonction de chaque rapport de concentration S/E.

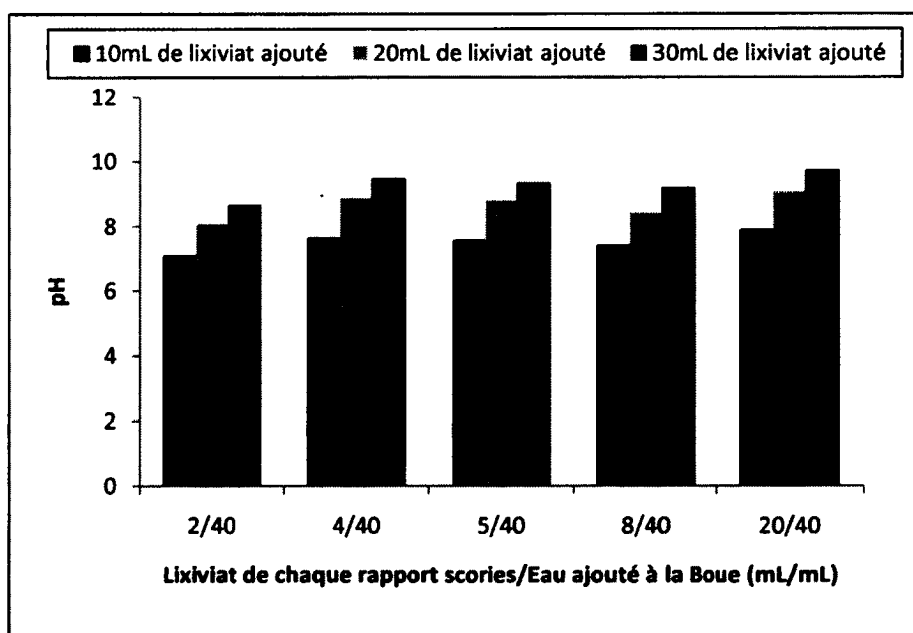


Figure 3.4 pH en fonction du volume de lixiviat ajouté à la boue (scoires non tamisées) mais aussi en fonction de chaque rapport de concentration S/E.

Les Figures 3.3 et 3.4 montrent une augmentation de pH qui n'est pas suffisante pour que le traitement de la boue soit efficace (soit $\text{pH} \geq 10$). En effet, pour chaque rapport de concentration, plus le volume de lixiviat ajouté augmentait, plus le pH de la boue augmentait aussi, mais ce dernier n'est pas supérieur ou égal à 10. De plus, l'ajout du lixiviat des scories se traduit par une augmentation du volume de la boue, ce qui donnait une apparence beaucoup plus diluée à notre échantillon. Notons que la boue piscicole est déjà très liquide au départ avec un pH d'environ $6,15 \pm 0,5$. Cette dilution du milieu de croissance de la souche *Clostridium* pourrait ralentir la croissance de celle-ci, allonger le temps de production du butanol et aussi diminuer la concentration de matière organique disponible par rapport au volume d'eau ajouté. Il a été aussi observé que le pH du lixiviat, des scories non tamisées, ajouté à la boue se rapproche plus de 10 que celles tamisées. Toutefois, ce type de traitement indirect n'a pas été retenu pour le traitement de la boue piscicole à cause du phénomène de dilution qui se produit sur la boue.

c) Test de traitement direct avec les scories tamisées et les scories non tamisées

Cette étape consiste à traiter la boue directement avec les scories. Pour cela, un essai est effectué sur le rapport scorie/boue, pour déterminer la concentration en scories qui serait adéquate pour ce traitement direct. Une prise de pH est alors effectuée sur différents rapports de concentration scories/boue, après une 1h d'agitation, les données recueillies sont présentées à l'annexe III. La Figure 3.5 montre une augmentation de pH lorsque le rapport de concentration scories/boue augmente. Lorsqu'on compare la méthode de traitement indirect avec le traitement direct, l'utilisation directe des scories avec la boue enlève le phénomène de dilution permettant ainsi d'atteindre plus facilement et plus rapidement un $\text{pH} \geq 10$. Il y a aussi le contact des scories avec les matières en suspension de la boue qui pourrait avantager le traitement grâce aux frottements pendant l'agitation. Le rapport scorie/boue retenu pour le traitement direct de la boue piscicole est 4g/40mL, car ce dernier assure un pH acceptable. Il sera alors utilisé pour la suite des travaux.

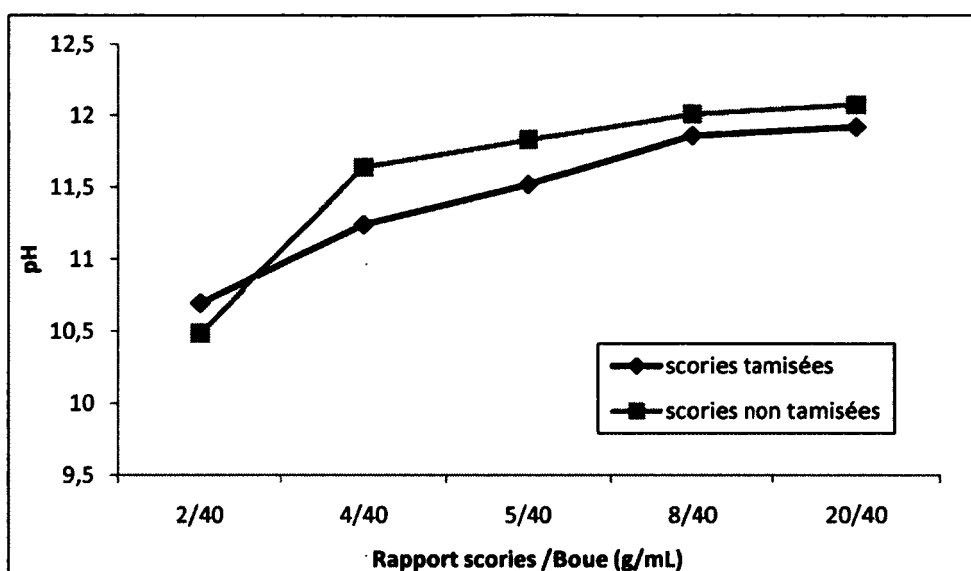


Figure 3.5 pH en fonction du rapport de concentration scories/boue.

3.1.3 Traitement direct de la boue piscicole avec des scories tamisées.

Le traitement appliqué à la boue piscicole a pour principal objectif de solubiliser la matière organique en la rendant facilement accessible à la souche *Clostridium*. Comme la production du butanol, requiert beaucoup d'énergie sous forme de sucres, une analyse des carbohydrates et de la demande chimique en oxygène permet de savoir si le milieu traité contient suffisamment de sucre et d'autres nutriments tel le phosphore, l'azote pour une bonne croissance de la souche *Clostridium*. Lorsque ces derniers sont limitant, cela entraîne un arrêt de croissance de la souche et par conséquent, une diminution ou une absence de production de solvants. Ce traitement est de type thermique associé au pouvoir alcalin des scories, qui sont constituées en grande partie de minéraux alcalins tel que le calcium. Il a été réalisé en déterminant les paramètres suivants : La température et le temps de réaction. De plus, le traitement au NaOH 4M a constitué notre échantillon témoin pour la suite des expériences. Les paramètres utilisés pour ce témoin sont 22°C et 140°C. Lors de l'analyse de la boue piscicole filtrée et totale, ~ 68,5 mg/L et ~ 1717 mg/L de glucose ont été obtenu respectivement avant le traitement.

a) Analyse de la concentration en carbohydrates

L'analyse des carbohydrates permet de quantifier, de façon plus précise, le contenu en sucres de notre échantillon total et filtré, avant le traitement et après le traitement. Rappelons qu'une concentration limitée en source de carbone tels que les sucres, limiterait ou empêcherait la bonne croissance de la souche *Clostridium* par conséquent la production du butanol (Syed, 1994).

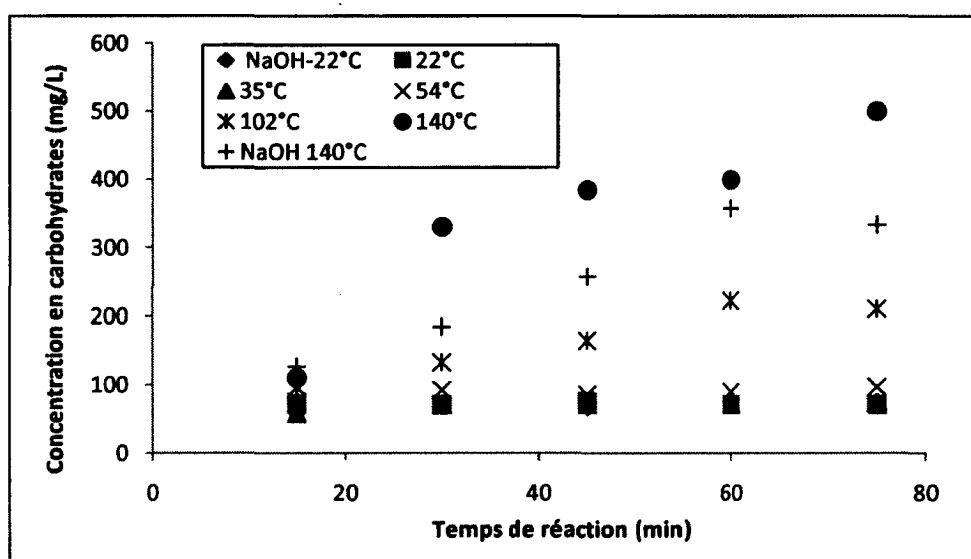


Figure 3.6 Concentration en carbohydrates de la boue piscicole traitée avec du NaOH 4M et/ou des scories tamisées en fonction de la température.

Après le traitement, les résultats obtenus à la Figure 3.6 montrent une bonne augmentation de la concentration en glucose sur les échantillons prétraités à 140°C que ce soit avec les scories ou du NaOH 4M (témoin). Soit ~ 500 mg/L et 350 mg/L, respectivement après 75mn de temps de réaction. Rappelons qu'avant le traitement de notre échantillon de boue piscicole, la concentration en glucose était environ 68,5mg/L dans la partie dissoute. Après le traitement au NaOH ou avec les scories, une augmentation respectivement de ~ 16% à 25% est obtenue dans la partie dissoute. A 102°C (soit ~220mg/L) et toujours après 75min de réaction, une augmentation en carbohydrates de 8% a aussi été obtenue dans la partie filtrée, mais pas assez comparativement à l'échantillon de 140°C. De 22 à 54°C, une légère

augmentation en glucose de 1 à 1,5% a été observée. Cela dit, il n'y a pas vraiment eu de changement comparé à l'échantillon de départ de la boue piscicole. Tout ceci montre que le paramètre à utiliser pour le traitement de la boue piscicole pourrait être à 140°C pendant 75min de réaction.

b) Analyse de la matière organique dissoute : la demande chimique en oxygène

L'analyse de la demande chimique en oxygène permet de mesurer la quantité d'oxygène qui est équivalent à la quantité de matières organiques dissoutes ou non dans notre échantillon de boue piscicole. Dans cette section, l'analyse a été réalisée sur la partie filtrée (dissoute) de l'échantillon après le traitement.

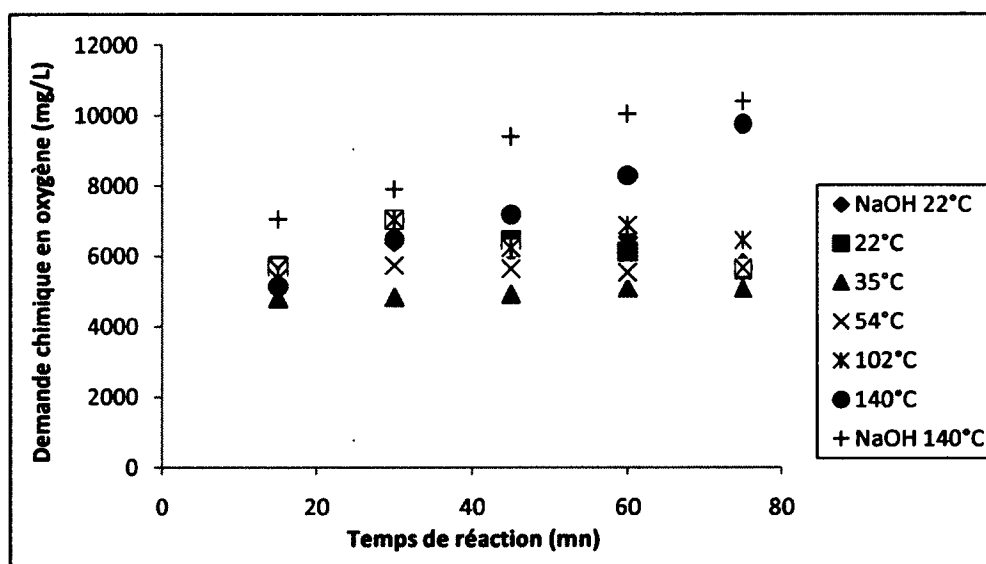


Figure 3.7 Analyse de la demande chimique en oxygène de la boue piscicole après son traitement direct avec du NaOH 4M et/ou des scories tamisées, en fonction du temps.

L'analyse de la demande chimique en oxygène (DCO) présente sur la Figure 3.7, des échantillons de boue prétraitée et filtrée, a montré une augmentation de la DCO d'environ 1 à 1,4% pour les températures allant de 22 à 102°C, et d'environ 2% à 140°C ceci toujours après un temps de réaction de 75min. Rappelons que la DCO filtrée initiale est de 5000

mg/L environ, et qu'à ces températures (22°C – 102°C), la DCO filtrée varie entre 4800 et 7035mg/L, respectivement. A 140°C, les échantillons prétraités avec les scories ont une DCO d'environ 9760 mg/L alors que ceux traités avec du NaOH 4M ont une DCO d'environ 10400 mg/L. Soit une augmentation de 20 à 24% respectivement, par rapport à la DCO totale (22945,8mg/L). Cette augmentation de la DCO se traduit par l'activité alcaline et physique des scories sur les matières en suspension des échantillons de boue piscicoles. Ainsi, le pouvoir alcalin des scories, combiné avec la température, solubilise les particules en suspension, les rendant facilement biodégradable.

c) L'azote ammoniacal et le phosphore réactif (ou orthophosphates, PO_3^{4-})

Il a été démontré que la limitation en ammonium et phosphore affectait grandement l'utilisation des sucres, la croissance de la souche et par conséquent la production du butanol (Syed, 1994). Ainsi, l'analyse de la concentration en ammonium et en phosphore réactif est réalisée pour évaluer la quantité d'azote et de phosphore se retrouvant dans le milieu dissous traité, et qui pourrait servir de facteurs de croissance pour le milieu de culture. Rappelons que la croissance de la souche *Clostridium* nécessite une concentration moyenne d'azote de 15g/L et de 5g/L phosphore dans le milieu de culture.

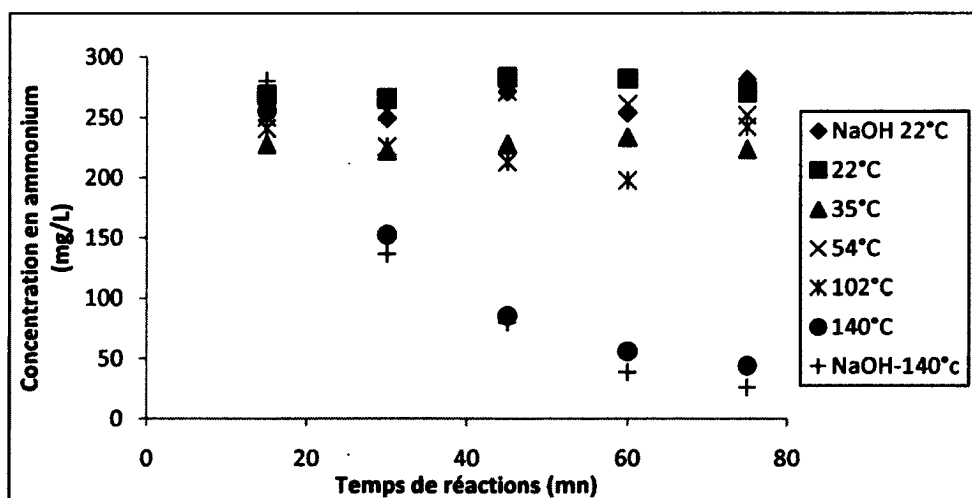


Figure 3.8 Concentration en ammonium du surnageant de la boue piscicole traitée avec du NaOH 4M et/ou des scories tamisées, en fonction du temps.

La Figure 3.8, nous indique une baisse de la concentration en ammonium, fortement influencée par la température et le temps de réaction. A 140°C, on obtient 44mg/L et 26mg/L d'azote ammoniacal (NH₃-N) après le traitement aux scories et au NaOH respectivement. Cependant, la concentration en ammonium avant le traitement est d'environ 328 mg/L. En effet, plus la température et le temps de réaction augmentait plus une diminution de la concentration en ammonium était observée, mais cette diminution était plus prononcée à 140°C. De 22 à 102°C, la concentration en ammonium a baissée de 15 à 25 %, une légère diminution que ce soit en présence du NaOH ou des scories tamisées. Mais à 140°C, une chute de la concentration en ammonium de 85% à 91% a été obtenue. Ceci indique que le milieu de boue traitée nécessiterait l'ajout d'azote dans le milieu, si ce dernier devait servir comme milieu de croissance pour la souche *Clostridium beijerinckii*.

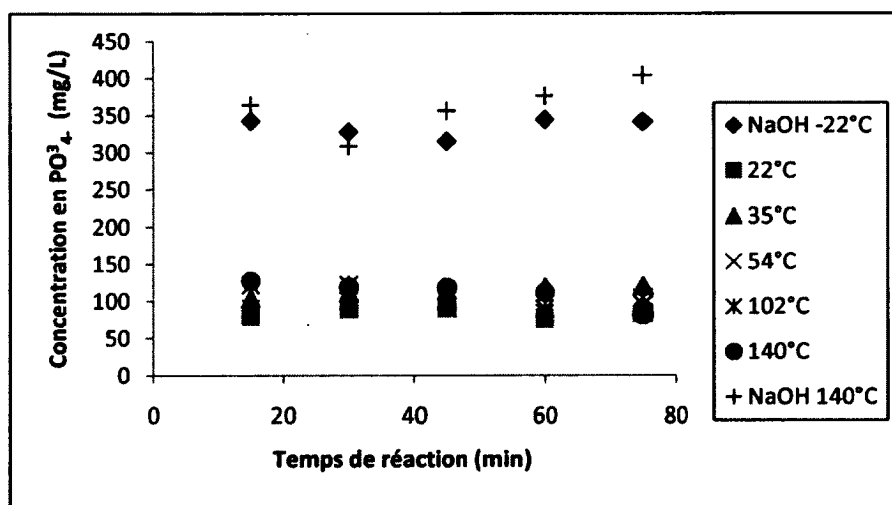


Figure 3.9 Concentration en phosphore réactif du surnageant de la boue piscicole traitée avec du NaOH 4M et/ou des scories tamisées, en fonction du temps.

Quant à la Figure 3.9, elle nous montre la capture du phosphore par les scories. En effet, avant le prétraitement, la boue piscicole avait une concentration d'environ 428 mg/L d'orthophosphates (PO₄³⁻). Après le prétraitement avec du NaOH à 22°C et 140°C, la concentration du phosphate n'a presque pas changé par rapport à sa concentration de départ (soit 350 -400 mg/L respectivement). Ceci montre que le NaOH n'a aucune influence sur la séquestration du phosphore. Toutefois, le prétraitement avec les scories, malgré le

changement de température (22°C à 140°C) a montré une forte diminution dans la concentration en phosphore, soit une diminution allant de 65% à 83%. Ceci indique que la température n'avait aucune influence sur cette diminution, et que les scories sont responsables de cette réduction.

Tableau 3.2 Récapitulatif de l'analyse chimique de la boue piscicole avant et après son prétraitement avec les scories tamisées

	Boue avant traitement (mg/L)	Boue après traitement à 140°C pendant 1h15 avec les scories tamisées, (mg/L).	Boue après traitement à 140°C pendant 1h15 avec le NaOH. (mg/L)
DCO filtré	~ 5000	~ 9760	~10400
Phosphore réactif	~428	~82	~403,8
Ammonium	~ 324	~ 44	~26
Glucose	~ 68,5	~ 500	~333,24

Le traitement de la boue piscicole avec les scories semblent être une voie à explorer (Tableau 3.2). Après le traitement avec les scories, la DCO filtrée a doublé et la concentration en glucose est 7 fois plus grande qu'avant le traitement. Tandis que la concentration en phosphore réactifs ou en ammonium est 5 à 7 fois plus faible qu'avant le traitement. D'autre part, après le traitement au NaOH 4M, la concentration en phosphore n'a presque pas changé. Et, la concentration en glucose et la DCO ont augmenté de 5 fois plus et 2 fois plus respectivement. Seule la concentration en ammonium a diminué 12 fois moins à cause de l'influence de la chaleur et du temps de réaction.

3.1.4 Caractérisation de la drêche d'orge (résidu de brasserie).

La drêche d'orge est un co-produit de brasserie de grande qualité. Utilisée comme aliment protéique pour les animaux, celle-ci contient certains éléments chimiques qui peuvent constituer un milieu de culture propice, pouvant servir comme des facteurs de croissance pour la culture de *Clostridium beijerinckii*.

Tableau 3.3 Caractéristiques physiques et chimiques des résidus d'orge (la drêche) avant prétraitement. (Pour 5,1g/L d'orge moulu ou écrasé)

Caractéristiques ⁽¹⁾	Concentrations	Pour 1kg de drêche
Caractéristiques Physiques		
Solides en suspension (mg/g)	170	17%
Solides volatiles en suspension (mg/g)	162	16,2%
Caractéristiques chimiques		
Carbone organique total (mg/L)	229,4	450g
Azote total (mg/L)	137,5	270g
Azote ammoniacal (mg/L)	4,7	0,92g
Phosphore total (mg/L)	65,25	12,8g
Orthophosphates (mg/L)	41,25	8,1g
Demande chimique en oxygène		
• Filtré (mg/L)	681	1335g
• Total (mg/L)	5570	10922g
Teneur en Glucose		
• échantillon filtré (mg/L)	210	412g
• échantillon total (mg/L)	1425	2794g

(1) voir les détails de calculs en Annexe II.

L'analyse physico-chimique de la drêche, présentée au Tableau 3.3, a révélé une teneur élevée en matière azotée, ce qui en fait un aliment protéique apprécié (voir l'annexe II pour plus de détails). Toutefois, ce dernier montre aussi une bonne concentration en glucose qui pourrait être utilisé ou combiné au milieu de culture. La présence de phosphore constitue aussi un facteur important pour la croissance de la souche.

3.1.5 Traitement direct et indirect des résidus d'orge (la drêche)

La drêche est la coque de l'orge. Cette dernière est très rigide et nécessite pour son traitement d'être moulu. Le traitement de la drêche a été effectué de façon direct (avec les scories) et indirect (lixiviat des scories). Les paramètres utilisés pour son traitement sont ceux ayant montrés de bons rendements avec le traitement de la boue piscicole (soit 140°C pendant

75min) avec un rapport de concentration scorie/eau distillée 4/40. Toutefois, la concentration idéale en masse sèche de résidus d'orge à traiter avec ces paramètres, restait à déterminer.

L'analyse chimique du traitement de la drêche a permis de montrer, premièrement, une diminution du pH lorsqu'on augmente la concentration en masse sèche de la drêche telle qu'illustrée à la figure 3.10 et à l'annexe V.

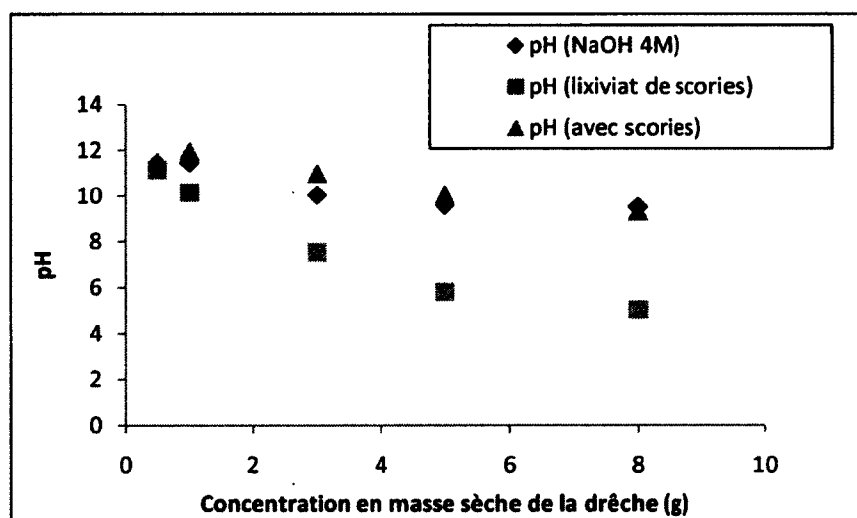


Figure 3.10 Variation du pH en fonction de la concentration en masse sèche de la drêche.

Cette diminution de pH est observée après le traitement avec du NaOH 4M ou avec les scories mais beaucoup plus avec le lixiviât des scories. Par exemple, pour 8g de drêche traitée, un pH de 9,53 était obtenu avec le NaOH, de 9,32 avec les scories et de 5,03 avec le lixiviât. Rappelons qu'après l'ajout de l'élément alcalin (les scories), on obtient un pH~ de $11,5 \pm 0,5$ avant d'ajouter la drêche sèche.

a) La Demande chimique en oxygène

Une augmentation de la demande chimique en oxygène (DCO) se produit lorsqu'on augmente la concentration en masse sèche de la drêche d'une part, mais plus encore lorsque celle-ci est traitée que ce soit avec du NaOH, avec les scories ou le lixiviât de ces derniers. Les résultats présentés à la figure 3.11 et à l'annexe V, montrent que la DCO de la drêche

traitée au NaOH est plus élevée que celle traitée avec les scories ou le lixiviat de ces derniers. Par exemple, la DCO pour 8g de drêche traitée est de 33760 mg/L, 20500 mg/L et 16640 mg/L avec le NaOH, le lixiviat de scories et les scories respectivement. Soit une augmentation de 7 et 11% dans le cas des scories et leur lixiviat et 26% avec le NaOH.

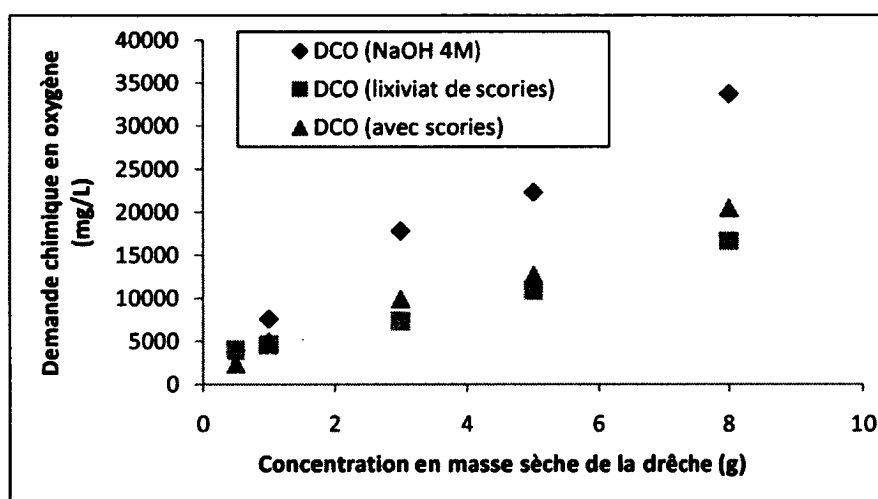


Figure 3.11 Variation de la demande chimique en oxygène en fonction du type de traitement appliqué et de la concentration en masse sèche de l'orge (g).

Avant le traitement, la DCO filtrée est de 681mg/L pour 5,1g/L de drêche sèche, ce qui traduit pour 80 g de drêche sèche par litre, une DCO filtrée de 10682 mg/L. Après le traitement au NaOH 4M, la DCO filtrée est de 33760 mg/L, tandis qu'avec les scories et leur lixiviat, la DCO filtrée est de 20500 mg/L et 16640 mg/L respectivement. Soit 3 fois plus de DCO filtrée après le traitement au NaOH 4M et 2 fois plus après le traitement aux scories. Cette augmentation de la DCO filtrée, se traduit par une augmentation de la matière organique dissoute dans le milieu traité. A la place du NaOH, les scories pourraient être utilisées pour traiter et valoriser des rejets ou résidus industrielles.

b) L'analyse des carbohydrates

L'analyse de la teneur en carbohydrates de la drêche traitée avec les scories semble plus grande que celle traitée avec leur lixiviat ou du NaOH 4M comme illustré à la figure 3.12 et

à l'annexe V. Par exemple, pour 8g de scories traité au NaOH 4M, on retrouve 4613 mg/L de glucose. Tandis que ceux qui sont traités avec les scories ou leur lixiviat, on retrouve 8075 mg/L et 4487mg/L respectivement. Ceci semble démontrer que le traitement avec les scories ou son lixiviat est plus avantageux et plus efficace qu'avec le NaOH, du point de vue rendement, voire même économique puisque les scories sont un déchet des aciéries. Rappelons qu'avant le traitement, une concentration de 210 mg/L est obtenue pour 5,1g/L de drêche d'orge. Soit pour 80g/L, on obtiendrait environ 3294mg/L. Soit une augmentation de 5% après le traitement avec le NaOH et du lixiviat des scories, puis de 20% avec les scories.

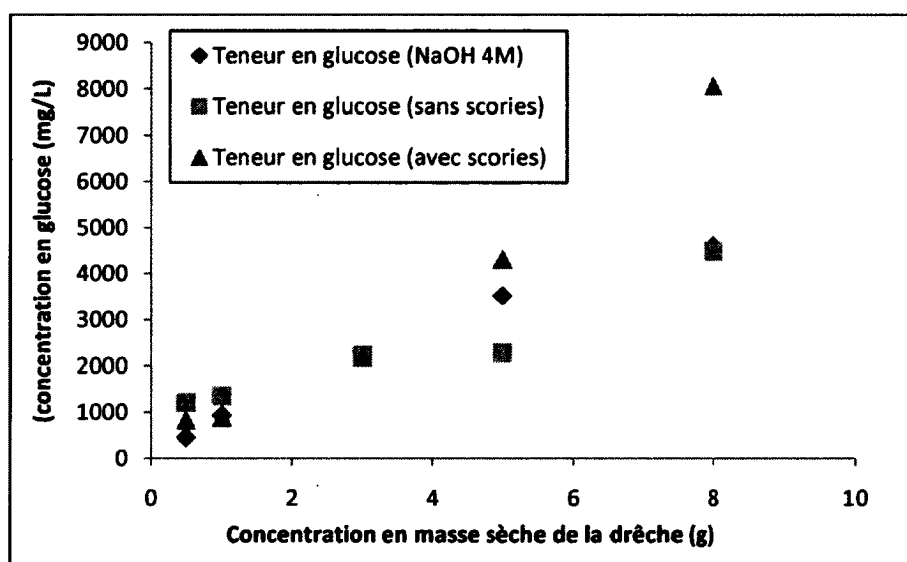


Figure 3.12 Variation de la teneur en glucose en fonction de la concentration en masse sèche de la drêche et du traitement appliquée.

c) L'analyse de la concentration en azote ammoniacal et en phosphore

La concentration en orthophosphate de la drêche avant le traitement est de 41,25mg/L pour 0,51g/100mL ce qui se traduit pour 8g/100mL, par 647mg/L environ. Après le traitement au NaOH 4M, la concentration en orthophosphate de la drêche est de 2432 mg/L pour 8g/100mL; de 481 mg/L pour le traitement avec le lixiviat de scories et de 234 mg/L pour le traitement avec les scories. Cela dit, une diminution dans la concentration en orthophosphate est observée dû au type de traitement appliqué tel qu'il est démontré à la figure 3.13 et à

l'annexe V. Sachant que la croissance de la souche *Clostridium beijerinckii* nécessite un minimum de 5g/L de phosphore, la concentration en phosphore qui reste après le traitement, semble insuffisante. Le milieu traité nécessiterait alors un ajout d'élément en phosphore pour une bonne croissance de souche.

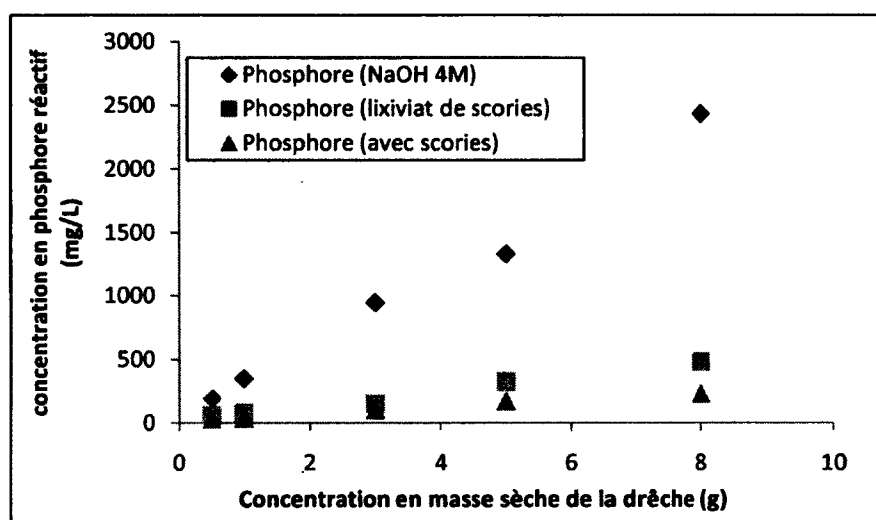


Figure 3.13 Variation de la concentration en phosphore en fonction de la masse sèche en orge et du traitement appliquée.

Enfin, l'analyse de la concentration en ammoniac après le traitement au NaOH et avec les scories a montré une diminution de la concentration telle que démontrée à la figure 3.14 et à l'annexe V. Soit pour 8g de drêche d'orge, on obtient 13mg/L et 9,75mg/L à 140°C, avec un pH de 9,53-9,32 respectivement. Tandis que le traitement avec le lixiviat des scories a montré une augmentation de la concentration en ammoniac, soit pour 8g de drêche d'orge, on obtient 29mg/L avec pH 5,03 à 140°C. Rappelons qu'avant le traitement, la concentration en ammoniac est de 73,7 mg/L pour 80g/L. Ceci indique que le pH et la température ont une influence sur la concentration en azote ammoniacal.

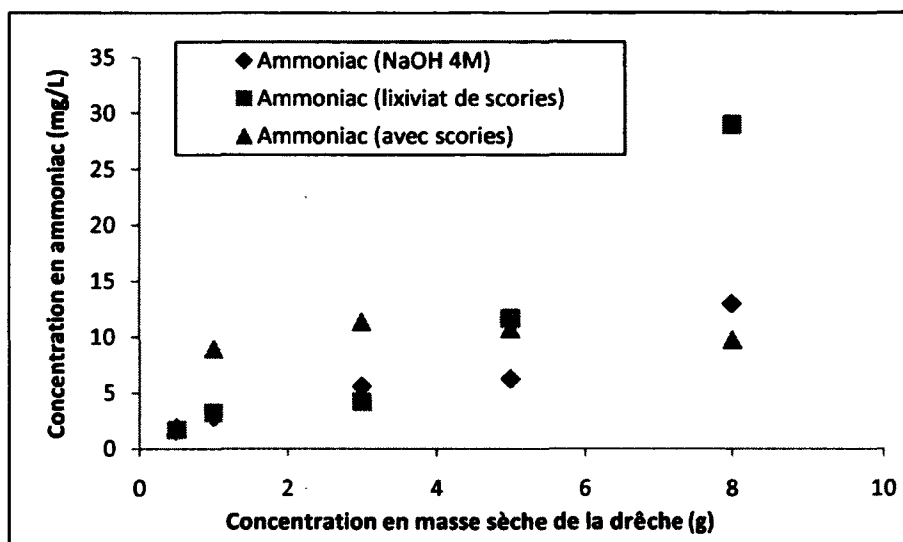


Figure 3.14 Variation de la concentration en ammonium en fonction de la masse sèche de la drêche et du traitement appliqué.

3.1.6 Essai de production du Butanol par fermentation en mode Cuvée avec la souche *Clostridium Beijerinckii*.

Les résultats précédents ont permis de déterminer les conditions idéales de traitement de la boue piscicole et de la drêche sèche, qui serviront par la suite comme milieu de croissance de la souche *Clostridium beijerinckii* pour la production du butanol.

Tableau 3.4 Analyse de la composition des différents milieux après fermentation

Types de test à analyser	Milieu de culture P2 (mg/L)	Boue piscicole prétraitée (mg/L)	Boue piscicole prétraitée + ajout de 60g/L de glucose (mg/L)	La drêche prétraitée (mg/L)	La drêche prétraitée + ajout de 60g/L de glucose (mg/L)
Glucose	>40000	500	>40000	8000	>50000
Ammonium	>15000	44	>15000	9,75	>15000
Phosphore	> 5000	82	> 5000	234	> 5000
Solution oligoéléments	1mL de chaque solution stock	-	1mL	-	1mL
% butanol	1 à 1,2%	-	-	-	-

La fermentation en mode cuvée a été réalisée sur trois types d'échantillons à savoir le milieu de culture P2, le surnageant de la boue piscicole traitée et/ou de la drêche traitée, le surnageant de la boue piscicole et/ou de la drêche traitée, complémenté avec du glucose, de l'azote et des minéraux. Le Tableau 3.4 montre une absence de production du butanol pour les surnageant de la boue piscicole et/ou de la drêche traitée, même après l'ajout du glucose.

Rappelons que lors de la fermentation de la boue piscicole traitée, l'environnement anaérobique était alimenté avec un catalyseur gaspak plus une enveloppe qui génère deux gaz CO_2 et H_2 . Tandis que la fermentation de la drêche traitée a été réalisée avec un catalyseur gaspak EZ, enveloppe qui génère seulement du CO_2 . Ce changement est dû à l'arrêt de production chez le fabricant du catalyseur gaspak générant du CO_2 et H_2 .

Toutefois, le milieu P2 a produit 1 à 2% de butanol lorsque le milieu anaérobie était alimenté avec un catalyseur gaspak plus (CO_2 et H_2). Mais lorsqu'il a été alimenté avec le catalyseur gaspak générant seulement du CO_2 , une absence de production du butanol a été observée. Ceci laisse croire que l' H_2 semble être un élément important dans la production du butanol.

3.2 DISCUSSION

Cette section constitue l'étape d'une analyse plus approfondie des différents thèmes abordés dans cette étude. Elle débutera avec l'interprétation des résultats de la caractérisation des rejets piscicoles et de la drêche, puis ceux du test de titrage des scories pour terminer avec les résultats du traitement et l'essai de fermentation.

3.2.1 Analyse de la caractérisation des rejets piscicoles et de brasserie

Les résultats de cette analyse montrent une variabilité élevée dans la qualité des rejets, tant par sa biodégradabilité, sa teneur en matières en suspension, sa concentration en DCO, que par son contenu en azote et en phosphore. Selon (Roque d'Orbcastel et al., 2008) sur l'analyse physico-chimique des eaux usées telle la boue piscicole, ces derniers ont obtenu une DCO soluble de 3320 mg/L, en phosphore réactif 199,5 mg/L et en azote ammoniacal 4155 mg/L tandis qu'avec notre étude on retrouve une DCO soluble de 4997 mg/L, de 428mg/L de phosphore réactif et de 324 mg/L d'azote ammoniacal. On pourrait attribuer cette différence de valeur au type et à la fréquence d'alimentation des poissons, leur capacité de capture ou de dégradation des aliments, ou encore à la méthode de distribution de ces aliments aux poissons.

La drêche, pour sa part, ne contenant presque plus de sucres fermentescibles, constitue néanmoins une matière riche en cellulose brute et en protéines, qui pourrait servir comme base pour un milieu de culture. Les résultats de l'analyse confirment cette approche. Soit pour 5,1g/L de drêche séchée, on obtient environ 1425 mg/L de carbohydrates total, 137,5 mg/L d'azote total et 65,25 mg/L de phosphore total. En d'autres termes, pour 1 kg d'orge, on pourrait obtenir après calcul, 2794 g de carbohydrates, 270g d'azote total et enfin 12,8g de phosphore total. Ces données peuvent se comparer à ceux retrouvées dans la littérature (Beuker, 2009). Soit 252 g de matières azotées et 5,3g de phosphore avec 22g de sucres fermentescibles et 176g de cellulose brut. Les différences des valeurs observées dans le cas du phosphore peuvent s'expliquer par le processus de brassage qui peut différer d'une usine à une autre. Dans le cas des sucres, la différence de valeur peut s'expliquer par le fait

qu'après l'étape de séchage, la drêche d'orge est moulue dans un mortier. Ce mouvement mécanique a probablement favorisé une décomposition de la cellulose brute en des sucres facilement hydrolysables. Enfin, dans le cas des matières azotées, les valeurs semblent s'harmoniser.

3.2.2 Évaluation du pouvoir alcalin des scories tamisées et non tamisées

Les résultats obtenus à la Figure 3.12, du test de titrage des scories tamisées et non tamisées ont montré que ces dernières (tamisées) après lixiviation, avaient un pH inférieur à ceux non tamisées, peu importe le type de traitement, direct ou indirect. On pourrait expliquer cette variabilité par la taille des scories. En effet, lors du test de titrage des scories tamisées ou non tamisées, rappelons que les échantillons étaient agités pendant une heure et la prise de pH était effectuée après ce temps. Alors, il se pourrait que l'agitation des scories non tamisées ait favorisé le concassage des scories de taille supérieure à cause des frottements qui se produisent lors de l'agitation. Ce concassage des scories a permis aux minéraux qui n'étaient pas exposés de s'hydrater, d'où cette augmentation de pH. Par contre les scories tamisées, étant donné leur petite taille, ($\leq 250\mu\text{m}$) et malgré l'agitation, ces dernières n'ont pas subi de concassage ou du moins un concassage minime. Signalons aussi que les scories sont un mélange de plusieurs minéraux, donc il est possible que le manque d'uniformité favorise cette variation de pH. Mais pour la suite des expériences, le choix de scories tamisées a été retenu pour favoriser une uniformité lors du traitement.

Dans le cas du traitement indirect avec les scories tamisées ou non, il a été aussi relevé une augmentation de pH lorsque le rapport de concentration S/E augmente. Le pH augmente lorsque la base conjuguée est d'autant plus concentrée. Rappelons que les scories sont d'une haute alcalinité à cause de la présence d'oxyde de calcium. On en déduit alors que cette hausse de pH est due à l'augmentation de la base conjuguée Ca(OH)_2 par la réaction :



Par contre, lorsqu'on ajoute 10mL du lixiviat de scories à 40mL de boue, une légère augmentation de pH a été observée sur la boue. Rappelons que le pH de la boue est de $6,5 \pm 0,5$ et celui des lixiviats autour de $11 \pm 0,5$. Dans ce cas, une réaction d'équilibre ou de neutralisation se poursuit. La boue agit ici comme une solution acide et le lixiviat des scories comme une base, il y a une réaction d'équilibre base/acide ou acide /base qui se produit. Les résultats obtenus aux figures 3.13 et 3.14, après l'ajout du lixiviat des scories tamisées ou non, montrent une augmentation du pH de la boue de 8 à 9,5, après un ajout de 30mL de volume, ce qui n'est pas suffisant pour le traitement de la boue. En chimie analytique, l'introduction d'une quantité supplémentaire d'un réactif ou d'un produit (base ou acide) dans le milieu réactionnel, a un effet important. En effet, la contrainte résultante se voit diminuée par suite du déplacement de l'équilibre dans la direction qui consomme une partie de la substance ajoutée (A.Skoog, West et Holler, 1997).

Toutefois, cette méthode n'a pas été retenue pour le traitement de la boue piscicole à cause de phénomène de dilution qui se produit lorsqu'on ajoute une très grande concentration de lixiviat dans la boue. Ce type de traitement est jugé non adéquat. Cependant, le traitement direct a été retenu parce que celui-ci permettait d'atteindre plus rapidement un $\text{pH} \geq 10$ sans qu'il y ait dilution de la boue piscicole. Lors du traitement direct de la boue piscicole, l'analyse du glucose, de la DCO, du phosphore réactif et de l'ammoniac, ont permis de déterminer lesquels des paramètres seraient adéquats pour le traitement des résidus ou déchets industriels.

3.2.3 Étude sur traitements direct de la boue piscicole avec des scories tamisées

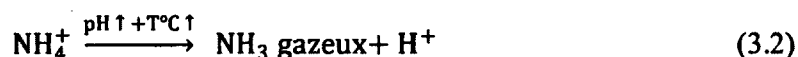
Selon les figures 3.16 et 3.17, la température et le temps de réaction ont une influence sur l'hydrolyse de la boue, en plus de l'activité alcaline des scories et les frottements qui se produisent entre ces derniers et les matières en suspension des boues piscicoles. En effet, l'hydrolyse de la boue piscicole augmente la quantité de carbohydrates solubles, la DCO soluble, la quantité d'acides aminés et de lipides. Ces analyses sont également confirmées par différents auteurs (Andreottola et Foladori, 2006; Borges et Chemicharo, 2009; Cai, Liu et Wei, 2004; Neyens et al., 2004). Car après l'analyse des carbohydrates des boues traitées

avec les scories tamisées, les résultats montrent une augmentation de 68,5mg/L (4% de la concentration total en carbohydrates) à 500mg/L (25% de la concentration totale en carbohydrates) selon les conditions suivantes 140°C pendant 75mn comparé à 350mg/L de carbohydrates soit environ 16% de la concentration totale, lorsque traité avec du NaOH 4M. Il a été démontré par (Borges et Chernicharo, 2009; Tyagi, 2005; Valo, Carrère et Delgenès, 2004), que la combinaison de l'hydrolyse alcaline avec une hydrolyse thermique provoque une rupture des fractions solides lesquelles ont été confirmées par une réduction de la taille des particules après le traitement. Cette même combinaison favorisait la destruction de la barrière cellulaire menant à la solubilisation des matières extracellulaires et intracellulaires. Ce qui explique l'augmentation de la DCO soluble après l'hydrolyse avec les scories (soit 20% de la DCO totale) ou le NaOH (soit 24% de la DCO totale), avec les paramètres suivants : température de 140°C pendant 75min. En fait, l'alcali ajouté (scories ou NaOH) réagit avec la barrière cellulaire par saponification des lipides. D'autres part, la température, quant à elle, réagit avec la structure des protéines ou de la boue en les dénaturants. (Everett, 1974; Neyens et al., 2004) a confirmé l'augmentation de la DCO soluble comme résultat de l'hydrolyse thermal des macromolécules organiques (acides aminés, acides volatiles et polysaccharides) en des matières biodisponibles et biodégradables.

Le traitement des boues avec les scories semble améliorer l'hydrolyse chimique de la boue, comparé à celles traitées avec du NaOH 4M dû à la présence de la lime (l'oxyde de calcium) (Kumar et al., 2009). L'oxyde de calcium est un cation divalent, qui agit sur les cellules de la boue en favorisant sa floculation, en désintégrant la membrane de ces cellules, suivi d'une lyse. L'oxyde de calcium a aussi un fort pouvoir de liaison comparé aux autres cations (Neyens, Baeyens et Creemers, 2003).

Quant aux figures 3.18 et 3.19, une baisse dans la concentration en ammoniac et en phosphore est obtenue après l'hydrolyse chimique de la boue avec les scories et le NaOH 4M. Les résultats montrent que dans le cas de l'ammonium, le temps de la réaction, la température ainsi que l'augmentation du pH ont favorisé cette baisse de concentration tandis que dans le cas du phosphore dissous, c'est l'utilisation des scories qui a influencé sa baisse

de concentration parce que lorsqu'elles sont traitées avec du NaOH 4M, presque qu'aucune diminution n'a été observé d'après la Figure 3.19. En effet, la baisse de concentration en azote ammoniacal est due à sa volatilisation. Selon (Suzanne Lavoie, 1994), la perte d'azote ammoniacal augmente avec la température, le mouvement de l'air et le pH du sol. En solution, l'ammonium (NH_4^+) et l'ammoniac (NH_3) sont à l'équilibre, lorsque qu'on augmente le pH et la température du sol ($^\circ\text{C}$) ou de la solution, la réaction suivante se produit :



En fait, lorsque le pH devient de plus en plus basique, l'équilibre du milieu évolue vers la forme ammoniacale. De plus, l'augmentation de la température, elle, influence également sur l'équilibre ammonium/ammoniacale mais aussi, elle favorise le transfert de la phase liquide vers l'atmosphère; c'est donc la volatilisation de l'ammoniacale sous forme gazeuse.

La baisse de concentration en phosphate observée lors du traitement avec les scories s'explique par l'enlèvement du phosphore dissous par les scories. En effet, ces derniers sont composés de sels métalliques tels que l'oxyde de calcium, l'oxyde d'aluminium, de fer et de magnésium. Ces sels minéraux sont le plus souvent employés pour la déphosphatation chimique des eaux usées, comme des agents absorbants (Xue, Hou et Zhu, 2009; Yamada et al., 1986). Leur réaction avec le phosphore forment un précipité insoluble hydroxo-métalliques. La solubilité de cette réaction varie en fonction du pH (Gaëlle Deronzier, 2004; L. Youcef, 2005). Dans le cas, de l'aluminium et du fer, la réaction chimique (le précipité) est efficace lorsque le pH est autour de 5,5 à 6,5 et de 5 à 6 respectivement (Gaëlle Deronzier, 2004; L. Youcef, 2005). Par contre avec le calcium, la réaction chimique (précipité) se produit à pH élevé ($\text{pH} > 9,5$) pour former l'hydroxyapatite tel que présenté par l'équation suivante :



Contrairement à l'hydroxyde de sodium, aucune diminution de phosphore n'a été relevée après le traitement. Ceci peut être expliqué par le fait que la précipitation de l'ion sodium avec le phosphate ne se fait probablement pas naturellement; il requiert d'autres étapes subséquentes, pour sa formation.

3.2.4 Traitement des résidus de brasserie : la drêche d'orge

Le traitement de la drêche a révélé une baisse de pH à la figure 3-20, lorsqu'on augmente la concentration en masse sèche de drêche séchée et moulue. Ceci peut s'expliquer par l'acidité de la drêche. Rappelons que la drêche pure a un $\text{pH} \leq 4,5$; ceci explique la baisse de pH observé lorsqu'on ajoute de l'acidité dans un milieu basique, une réaction d'équilibre se produit entre les ions OH^- et H^+ . D'autres parts, la baisse de pH est plus grande lorsque la drêche est traitée avec le lixiviat de scories qu'avec le NaOH et les scories. Cette différence est due à l'absence d'un élément tampon dans le milieu.

Le traitement de la drêche avec les scories a permis de montrer également, une augmentation de la DCO soluble de 11% et de carbohydrates solubles de 20% dans la partie filtrée. Cette augmentation est due d'une part à l'augmentation de la concentration de la masse sèche de la drêche et d'autre part, à l'activité alcaline du milieu sur les résidus, ainsi qu'au frottement qui se produisent lors de l'agitation. En effet, lors de la dégradation alcaline de la cellulose, le traitement physique de la drêche augmente la surface d'hydrolyse de la cellulose. Ensuite, une augmentation dans la dépolymérisation de la cellulose se produit par plusieurs clivages des liaisons glycosidiques. Ceci pourrait expliquer cette augmentation de carbohydrates obtenus dans la fraction soluble.

Lors du traitement de la drêche, une baisse de phosphore a été aussi observée avec les scories comme dans le cas du traitement des boues piscicoles. Tandis qu'avec le NaOH, une augmentation dans la concentration en phosphore a été relevée. Cette augmentation est normale, étant donné, l'augmentation de la concentration en masse sèche de la drêche et l'alcalinité du milieu. Une variation dans la concentration en ammonium a été relevée lors du traitement avec les scories, leur lixiviat ou avec le NaOH. Toutefois, le traitement avec les

scories et de NaOH ont montré une plus forte diminution d'ammonium qu'avec le lixiviat de scories. En effet, cette variation peut s'expliquer par la variation de pH. Comme il a été mentionné précédemment, plus le pH et la température sont élevés plus l'ammoniac est volatilisé sous forme de gaz, c'est ce qui se passe avec la drêche traitée avec les scories et le NaOH. Tandis qu'avec le lixiviat des scories, il y a moins de volatilisation d'ammoniac parce que le pH diminue. Il y a alors, une réaction d'équilibre qui se produit entre les ions ammonium/ammoniac, à chaque fois qu'on augmente la concentration en masse sèche de la drêche.

Dans le cas de la drêche et de la boue, 20% à 25% de carbohydrates sont obtenus après le traitement avec les scories et 5% à 16% respectivement avec le NaOH. Cette variation observée peut être traduite par le type de rejets industrielles traités, mais aussi parce que le NaOH est un cation monovalent et le CaOH_2 , un cation divalent.

3.2.5 L'essai de fermentation en mode cuvée avec la souche *Clostridium Beijerinckii*.

Les résultats obtenus de cet essai n'ont montré aucune production du butanol après le traitement avec les scories. Ceci pourrait s'expliquer par la présence d'éléments inhibiteurs dans le cas de la boue piscicole parce que même après l'ajout du glucose et d'autres éléments essentiels à la croissance, aucune production n'a été relevée. On pourrait aussi penser, que ceci peut être dû à la difficulté des souches à croître dans ce type de milieu.

Dans le cas de la drêche, l'absence de production du butanol peut être due au changement de dispositif lors de la fermentation. En effet, aucune production du butanol n'a été observé à la fois pour le témoin que pour le milieu de drêche traitée contrairement à la boue piscicole. Toutefois, la quantité de butanol obtenu dans le milieu de culture conventionnel après fermentation, et après avoir utilisé le gaspak $\text{CO}_2 + \text{H}_2$, correspond à ce qui a déjà été obtenu par d'autres études, soit 2% de butanol produit.

CONCLUSION

Ce mémoire présente une nouvelle méthode de traitement à base de scories d'aciéries afin de valoriser des déchets agro-industriels, en l'occurrence les rejets de pisciculture, et ceux de brasseries. Dans un premier temps, une caractérisation de ces rejets a été effectuée. Par la suite, des paramètres ont été modifiés et contrôlés afin d'optimiser les conditions de culture de *Clostridium* pour la production du butanol.

Cette nouvelle méthode de traitement à base de scories a montré qu'elle améliorait la disponibilité des sucres de 20% à 25%.

Cependant, l'enlèvement du phosphore par les scories dans les milieux traités, soit 64% à 81% ou encore la réduction de la concentration en azote de 85% à 91%, due à la température et l'alcalinité, pourraient affecter la qualité du milieu de culture. Dans le cas de la production du butanol, le milieu de culture des souches *Clostridium beijerinckii*, requiert une certaine quantité de ces éléments (phosphore et azote) indispensables à la croissance de la souche. Cela dit, si ces rejets traités sont utilisés comme milieu de culture pour la souche *Clostridium beijerinckii*, les éléments tels que le phosphore et l'ammonium devraient être ajoutés au milieu de culture afin d'assurer la croissance de la souche.

Enfin, les paramètres optimums de traitement avec les scories qui ont été retenus, sont 140°C pendant 75 minutes. Ces derniers ont permis une bonne augmentation de la concentration des carbohydrates dans la fraction soluble. Reste à savoir si ces sucres présents dans la fraction soluble sont fermentescibles ou requièrent une autre étape subséquente d'hydrolyse.

D'après l'essai de fermentation en mode discontinue des rejets traités, aucune production de butanol n'a été obtenue. Cette absence de production du butanol ne nous permet pas de conclure sur la possibilité d'utiliser ces rejets traités ou non. Étant donné, le problème lié à l'équipement.

Enfin, la nouvelle méthode de traitement avec les scories semble être une approche prometteuse qui nécessite d'être développée davantage. Cette méthode présente plusieurs avantages : son efficacité, son faible coût comparativement à l'utilisation du NaOH, la facilité de sa mise en œuvre et de récupération des scories après le traitement.

RECOMMANDATIONS

Les résultats obtenus peuvent permettre de recommander les scories pour le traitement des résidus industriels, agro-industriels ou municipaux. Cependant, ils requièrent que plusieurs études soient effectuées, au préalable, afin de déterminer si le traitement avec les scories peut être appliqué sur toutes sortes de résidus.

Il serait aussi essentiel de vérifier si le traitement avec les scories nécessite une étape d'hydrolyse enzymatique subséquente, de vérifier la présence de composés inhibiteurs dans le milieu traité.

D'autre part, il serait important de valider si les conditions déterminées du traitement avec les scories sont optimales pour tous les types de résidus.

Il serait également très intéressant de déterminer, de façon plus détaillée les mécanismes réactionnels qui se produisent lors du traitement.

Le développement de ce nouveau traitement pourrait être poursuivi en le combinant à d'autres procédés de traitement comme l'agitation, dans le but d'optimiser la disponibilité des sucres, par conséquent, la production du butanol.

ANNEXE I

RESULTATS DES ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES DE LA BOUE PISCICOLE

TEST MES ET MVES

-Pour l'échantillon 1 : 10mL de l'échantillon de boue dilué 5/50 avec de l'eau distillée.

	Filtre # 1	Filtre # 2	Filtre #3	Filtre #4	Moyenne des filtres
m ₁ = Avant filtration (Coupelle + filtre 1,2µm)*	18,9673	17,3690	17,9706	20,4692	18,69345
m ₂ = Après filtration (Coupelle + filtre 1,2 µm)*	18,9753	17,3761	17,9774	20,4742	18,70075
m ₃ = Placés à 550°C toute la nuit après filtration.	18,9664	17,3683	17,9714	20,4675	20,4675

*** Attention :** Les coupelles + les filtres sont mis à 105°C pendant 2h avant et après la filtration. Le volume de boue filtrée est de 10mL. Le type de filtre utilisé est 1.2 µm pour l'ensemble des analyses.

Calcul des MES : (m₂ - m₁) x facteur de dilution / V

Exemple de Calcul : (18,9753 – 18,9673) x 10⁴/10⁻² = 8000 mg/L.

La moyenne des 4 filtres en MES est: 7300 mg/L de MES (1).

Calcul des MVES : (m₂ – m₃) x facteur de dilution / V

Exemple de Calcul : (18,9753 – 18,9664) x 10⁴/10⁻² mL = 8900 mg/L

La moyenne des 4 filtres en MVES est: 7350 mg/L de MVES (2).

-Pour l'échantillon 2 : 10mL d'échantillon dilué 5/25 avec de l'eau distillée

	Filtre # 1	Filtre # 2	Filtre #3	Filtre #4	Moyenne de filtres
Avant filtration (Coupelle + filtre 1,2µm)*	18,4605	18,9089	18,3494	19,0047	18,680875
Après filtration (Coupelle + filtre 1,2 µm)*	18,4742	18,9239	18,3650	19,0213	18,6961
Placés à 550°C toute la nuit après filtration.	18,4605	18,9097	18,3516	19,0079	18,682425

***Attention :** Les coupelles + les filtres sont mis à 105°C pendant 2h avant et après la filtration. Le volume de boue filtrée est de 10mL.

Calcul des MES : (m₂ - m₁) x facteur de dilution / V

Exemple de Calcul : $(18,4742 - 18,4605) \times 5 \times 10^3 / 10^{-2} = 6850 \text{ mg/L}$

La moyenne des 4 filtres en MES est: $(18,6961 - 18,680875) \times 5 \times 10^3 / 10^{-2} = 7612,5 \text{ mg/L}$ de MES (1').

Calcul des MVES : $(m_2 - m_3) \times \text{facteur de dilution} / V$

Exemple de Calcul : $(18,9753 - 18,9664) \times 5 \times 10^3 / 10^{-2} = 8900 \text{ mg/L}$

La moyenne des 4 filtres en MVES est: $(18,6961 - 18,682425) \times 5 \times 10^3 / 10^{-2} = 6837,5 \text{ mg/L}$ de MVES (2').

La moyenne des 2 échantillons (1 et 1') en MES est : $(7300 + 7612,5) / 2 = 7456,25 \text{ mg/L}$

La moyenne des 2 échantillons (2 et 2') en MVES est : $(7350 + 6837,5) / 2 = 7093,75 \text{ mg/L}$

TEST DCO (Tube à essais du réactifs de digestion DCO -1500mg/L, Voir le protocole expérimental pour la méthodologie)

Échantillon dilué 1/10 avec de l'eau distillée.

Échantillon non dilué.

DCO filtrée = 499,7 mg/L

DCO filtrée = $499,7 \times 10 = 4997 \text{ mg/L}$

Échantillon dilué 1/50 avec de l'eau distillée.

Échantillon non dilué.

DCO non filtrée = 458,92 mg/L

DCO non filtrée = $498,92 \times 50 = 22945 \text{ mg/L}$

mg/L

TEST PHOSPHORE (Tube à essais du réactifs de digestion phosphore de concentration 0 – 5mg/L PO_4^{3-} pour le test phosphore réactif et 0 – 3,5mg/L pour le phosphore total, Voir Le protocole expérimental pour la méthodologie)

Phosphore réactif : Blanc = 0,14 mg/L

Echantillon 1/100 filtré = 4,42 mg/L de PO_4

Concentration en phosphore réactif: $(4,42 - 0,14) \times 100 = 428 \text{ mg/L}$

Phosphore total : Blanc = 0,43 mg/L

Echantillon 1/500 non filtré = 3,36 mg/L

Concentration en phosphore total: $(3,36 - 0,43) \times 500 = 1465 \text{ mg/L}$

TEST D'AMMONIUM ET D'AZOTE TOTAL (Tube à essais du réactifs de digestion Ammonium et azote total de concentration 0 – 2,5 mg/L $\text{NH}_3\text{-N}$ et 0-25 mg/L N total respectivement. Voir le protocole expérimental pour la méthodologie)

Ammonium NH_3 : Échantillon 1/50 = 6,48 mg/L $\text{NH}_3\text{-N}$

Concentration en ammonium (moyenne des échantillons x leur facteur de dilution) : $6,48 \times 50 = 324 \text{ mg/L } \text{NH}_3\text{-N}$

Azote – N total : Échantillon 1/50 = 15,6 mg/L N

Concentration en azote-N total(moyenne des échantillons x leur facteur de dilution) : $15,6 \times 50 = 780 \text{ mg/L N}$

TEST TOC: TOC = 108,1 pour l'échantillon dilué 1/10 et filtré à 1,2 μ m. Pour un échantillon non dilué j'obtiens $108,1 \times 10 = 1081$ mg/L

TEST GLUCOSE : pour 1mL d'échantillon de boue filtrée, j'obtiens 68,5 ppm, ce qui correspond à 68,5mg/L de glucose, pour un échantillon de boue total j'obtiens 1717,6mg/L de glucose.

ANNEXE II

RESULTATS DE L'ANALYSE PHYSICO-CHIMIQUE DES CO-PRODUITS DE BRASSERIE « LES BRASSEURS DU NORD » : LA DRÊCHE D'ORGE

TEST MES ET MVES

	Coupelle # 1	Coupelle# 2	Coupelle #3	Coupelle #4	Moyenne
m ₁ = Coupelle	19,1987	18,4063	18,5963	18,3165	18,62945
m ₂ = Après l'ajout de l'échantillon	20,2000	19,4104	19,6869	19,3810	19,669575
m ₃ = *Placé à 105°C pendant 2h.	19,3710	18,5743	18,7812	18,4913	18,80445
m ₄ = Placé à 550°C toute la nuit.	19,2049	18,4131	18,6016	18,3226	18,63555

*** Attention :** Les coupelles sont mises à 105°C pendant 2h après l'ajout de l'échantillon.
Le poids de l'échantillon humide (résidus d'orge) ajouté, est environ 1g (grammes).

Calcul des MES : $(m_3 - m_1) \times 10^3 / m_{\text{initiale}}$

Exemple de Calcul : $(18,80445 - 18,62945) \times 10^3 / 1,04 = 170$ mg par gramme de résidus d'orge humide

Calcul des MVES : $(m_3 - m_4) \times 10^3 / m_{\text{initiale}}$

Exemple de Calcul : $(18,80445 - 18,63555) \times 10^3 / 1,04 = 162$ mg par gramme de résidus d'orge humide

Note importante : Pour la suite des analyses, le résidu d'orge a été séché 48heures à 70C.
Après cela, ce dernier est moulu dans un petit mortier et 0,51 g de ce résidu est alors suspendu dans 100 mL d'eau distillée.

TEST DCO (Tube à essais du réactifs de digestion DCO -1500mg/L)

Échantillon dilué 1/5 avec de l'eau distillée.

DCO non filtré = 1114 mg/L

Échantillon non dilué.

DCO non filtré = $1114 \times 5 = 5570$ mg/L

DCO filtré = 681mg/L

TEST PHOSPHORE (Tube à essais du réactifs de digestion Phosphore de concentration 0 – 5mg/L PO₄³⁻ pour le test phosphore réactif et 0 – 3,5mg/L pour le phosphore total, voir le protocole expérimental pour la méthodologie)

Phosphore réactif : Blanc = 0,21 mg/L

Échantillon 1/25 filtré = 1,86 mg/L de PO₄³⁻

Concentration en phosphore réactif: $(1,86 - 0,21) \times 25 = 41,25$ mg/L

Phosphore total : Blanc = 0,40 mg/L

Échantillon 1/25 non filtré = 3,01 mg/L de PO_4^{3-}

Concentration en phosphore total: $(3,01 - 0,40) \times 25 = 65,25 \text{ mg/L}$

TEST D'AMMONIUM ET D'AZOTE TOTAL (Tube à essais du réactifs de digestion Ammonium et azote total de concentration 0 – 2,5 mg/L $\text{NH}_3\text{-N}$ et 0-25 mg/L N total respectivement. Voir Le protocole expérimental pour la méthodologie)

Ammonium NH_3 : Échantillon 1/25 = 0,23 mg/L $\text{NH}_3\text{-N}$

Échantillon 1/5 = 0,73 mg/L $\text{NH}_3\text{-N}$

Concentration en ammonium (moyenne des échantillons x leur facteur de dilution) : $(0,23 \times 25) + (0,73 \times 5) / 2 = 4,7 \text{ mg/L NH}_3\text{-N}$

Azote – N total: Échantillon 1/25 = 5,5 mg/L N

Échantillon 1/5 = 27,6 mg/L N

Concentration en azote-N total (moyenne des échantillons x leur facteur de dilution) : $5,5 \times 25 = 137,5 \text{ mg/L N}$

TEST TOC: TOC = 229,4 ppm pour l'échantillon de 0,51 g suspendu dans 100 mL et filtré à 1,2 μm . J'obtiens alors 229,4 mg/L de Carbone organique total pour 0,51 g.

TEST GLUCOSE : Pour 0,51 g d'échantillon de résidus d'orge séché, j'obtiens 210 ppm, ce qui correspond à 210 mg/L de glucose soluble et 1425 mg/L de glucose total.

ANNEXE III

RESULTATS DU TEST DE TITRAGE DES SCORIES TAMISES OU NON TAMISES

a) Les Scories tamisés

TEST de titrage des scories dans l'eau distillée (2g/40mL)			
Temps (min)	Echantillon 1	Echantillon 2	Moyenne
0	7,63	8,53	8,08
20	10,95	10,95	10,95
40	11,14	11,17	11,155
60	11,39	11,39	11,39

TEST pH Scories-eau distillée (g/mL)			
Rapport scories-eau distillée	Echantillon 1	Echantillon 2	Moyenne
2/40	11,57	11,37	11,47
4/40	11,74	11,68	11,71
8/40	12,14	12,02	12,08

TEST pH Scories -Boue (g/mL)			
Rapport scories-boue	Echantillon 1	Echantillon 2	Moyenne
2/40	10,59	10,8	10,695
4/40	11,15	11,35	11,25
5/40	11,4	11,64	11,52
8/40	11,78	11,94	11,86
20/40	11,83	12,01	11,92

TEST pH sur le mélange Lixiviat (Scories-eau distillée) / boue

	Échantillon 1		Échantillon 2		Échantillon 1		Échantillon 2	
Volume ajouté	10ml		20ml					
Rapport lixiviat -boue	pH	Moyenne	pH	Moyenne	pH	Moyenne		
4/40	6,7	6,8	6,75	7,32	7,2	7,26	8,22	7,9
8/40	6,72	6,75	6,735	7,61	7,63	7,62	8,48	8,37
	6,83	6,85	6,84	7,61	7,63	7,62	8,48	8,37

b) Les scories non tamisés

TEST de titrage des scories dans l'eau distillée (2g/40mL)

Temps (mn)	Échantillon 1	Échantillon 2	Moyenne
0	10,85	10,95	10,9
20	11,96	11,89	11,925
40	12,06	11,94	12
60	12,08	11,94	12,01

TEST pH Scories -Boue (g/mL)

Rapport scories-eau distillée	Échantillon 1	Échantillon 2	Moyenne
2/40	10,82	10,15	10,485
5/40	11,93	11,73	11,83
20/40	12,13	12,02	12,075

TEST Ph Scories-eau distillée (g/mL)

Rapport scories-eau distillée	Échantillon 1	Échantillon 2	Moyenne
2/40	11,43	11,76	11,595
5/40	12,12	12,11	12,115
20/40	12,34	12,25	12,295

TEST pH sur le mélange Lixiviat (Scories-eau distillée) / boue									
	Échantillon 1		Échantillon 2		Échantillon 1		Échantillon 2		
Volume ajouté	10ml		20ml		30ml		40ml		
Rapport lixiviat -boue	pH	Moyenne	pH	Moyenne	pH	Moyenne	pH	Moyenne	
1/40	7,0	7,085	8,12	8,06	9,44	9,47	9,44	9,47	
4/40	7,75	7,54	7,645	8,84	8,93	8,885	9,44	9,47	9,455
8/40	8,04	6,75	7,395	9,22	7,63	8,425	9,95	8,37	9,16
12/40	8,04	7,875	8,96	8,92	9,44	9,47	9,44	9,47	

ANNEXE IV

RESULTATS SUR LE TRAITEMENT DES BOUES PISCICOLES

a) Traitement avec le NaOH 4M

T°C = 22; pH = 11,5 ajusté avec 4M de NaOH										
Glucose Filtrée	62,77	57,78	67,76	72,36	69,36	67,03	78,9	77,06	62,57	76,99
DCO Filtrée	5460	5960	6080	6680	5960	6280	6640	6400	5920	5680
Phosphore Réactive	330	355,5	331,25	324,75	304,5	326,25	340,25	348,5	329,5	353,5
Ammonia	255	276	242	257	272	271	244	264	269	293
pH	6,15	11,48	11,56	11,4	11,46	11,42	11,96	11,56	11,45	11,52

b) Traitement avec les scories tamisées à 22°C

T°C = 22; pH = 11±1; 12g de scories tamisés/120mL de Boues piscicoles											
Concentration (g/L)	0	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150
Glucose Filtrée		66,01	78,3	71,99	71,29	81,27	70,62	77,41	65,5	74,92	66,72
Moyenne	68,4525	72,155	71,64	71,64	75,945	71,64	71,64	71,64	71,64	71,64	71,64
DCO Filtrée		5560	5880	6920	7160	6440	6480	6040	6200	5580	5640
Moyenne	5000	5720	7040	7040	6460	6460	6460	6460	6460	6460	6460
Phosphore Réactive		72	88	100,5	79,25	96,25	84,75	78,5	74,5	78,75	88,5
Moyenne	428	80	89,875	89,875	90,5	90,5	90,5	90,5	90,5	90,5	90,5
Ammonia		262,5	274,5	259	272,5	280,5	285,5	253	310,5	282	259,5
Moyenne	324	268,5	265,75	265,75	283	283	283	283	283	283	283
pH		11,48	11,56	11,4	11,46	11,42	11,96	11,56	11,45	11,52	11,42

c) Traitement avec les scories tamisées à 35°C

T°C = 35; pH = 11±1; 12g de scories tamisés/120mL de Boues piscicoles											
Concentration (g/L)	0	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150
Glucose Filtrée		60,58	56,53	71,91	70,51	69,72	73,87	71,79	73,47	73,42	75,59
Moyenne	68,4525	70,555	71,21	71,21	71,795	71,795	71,795	71,795	71,795	71,795	71,795
DCO Filtrée		4680	4920	4880	4800	4800	5040	4960	5240	5080	5080
Moyenne	5000	4800	4840	4840	4920	4920	4920	4920	4920	4920	4920
Phosphore Réactive		99	109,25	110,5	112,75	115	114,5	117,25	121,5	124,25	117,25
Moyenne	428	104,125	111,625	111,625	114,75	114,75	114,75	114,75	114,75	114,75	114,75
Ammonia		220	236	221	225	225	231	224	244	226	222
Moyenne	324	228	223	223	228	228	228	228	228	228	228
pH		11,48	11,56	11,4	11,46	11,42	11,96	11,56	11,45	11,52	11,42

d) Traitement avec les scories tamisées à 54°C

T°C = 54; pH = 11±1; 12g de scories tamisés/120mL de Boues piscicoles										
	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150
Glucose Filtrée	69,9	81,5	91,95	92,99	78,54	93,49	94,23	85,58	98,56	94,98
DCO Filtrée	5720	5600	5960	5520	5600	5680	5600	5480	5440	5880
Phosphore Réactive	92	87,75	94,25	108,25	105,25	96,5	92,25	75,75	106,5	103,5
Ammonia	251,5	249	266	245	251	292	287	235,5	250	254
pH	11,48	11,56	11,4	11,46	11,42	11,96	11,56	11,45	11,52	11,42

e) Traitement avec les scories tamisées à 100°C

T°C = 100; pH = 11±1; 12g de scories tamisés/120mL de Boues piscicoles										
	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150
Glucose Filtrée	89,136	104,8	145,52	120,24	170	160,3	172,44	272,62	228,19	192,35
DCO Filtrée	4740	6000	6530	7540	6290	6180	5640	8110	6920	5980
Phosp. Réact.	105	138,9	123,8	121	93,8	111,6	77,4	101,8	97,6	93,6
Ammonia	233,5	248,5	221,5	230,5	201	225	206	189,5	216,5	268,2
pH	11,48	11,56	11,4	11,46	11,42	11,96	11,56	11,45	11,52	11,42

f) Traitement avec les scories tamisées à 140°C

T°C = 140; pH = 11±1; 12g de scories tamisés/120mL de Boues piscicoles

Temps de réaction	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150
Glucose Filtrée	97,36	123,33	339,48	321,12	396,23	372,47	441,7	357,12	500	499,82
Moyenne	110,345	330,3	384,35							
DCO Filtrée	4900	5380	6290	6660	6970	7400	9170	7420	9950	9570
Moyenne	5140	6475	7185							
Phosphore Réactive	131,5	123,25	148,5	89,75	116,75	121	129,25	94,5	91,5	72,5
Moyenne	127,375	119,125	118,875							
Ammoniac	251	260	163	142	91	80	43	69	45	43
Moyenne	255,5	152,5	85,5							
pH	11,48	11,56	11,4	11,46	11,42	11,96	11,56	11,45	11,52	11,42

g) Traitement avec le NaoH 4M à 140°C.

T°C = 140; pH = 11,5±1 ajusté avec 4M de NaOH

Temps de réaction	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150
Glucose Filtrée	150,28	103,05	188,24	181,03	248,22	266,96	368,43	346,28	345,11	321,45
Moyenne	125,665	184,635	257,59							
DCO Filtré	6900	7200	7700	8100	9200	9600	9900	10200	10100	10700
Moyenne	7050	7900	9400							
Phosphore Réactive	368,25	360	299,25	318	352,5	359,25	386	366,75	400	407,75
Moyenne	364,125	308,625	355,875							
Ammoniac	259	301	103	170	88	72	36	41	32	20
Moyenne	324	280	136,5							
pH	11,48	11,56	11,4	11,46	11,42	11,96	11,56	11,45	11,52	11,42

ANNEXE V

RESULTATS DU TRAITEMENTS DE LA DRECHE D'ORGE

a) Traitement avec du NaOH 4M

Concentration d'orge en matière sèche	0,5	1	3	5	8
Moyenne	11,46	11,46	10,03	9,59	9,53
Moyenne	3880	7560	17800	22340	33760
Moyenne	1,6	2,9	5,6	6,3	13
Moyenne	193,7	349	947,5	1332,5	2432,5
Moyenne	452,6092	936,9876	2227,907547	3526,569575	4613,125025

b) Traitement avec le lixiviat des scories

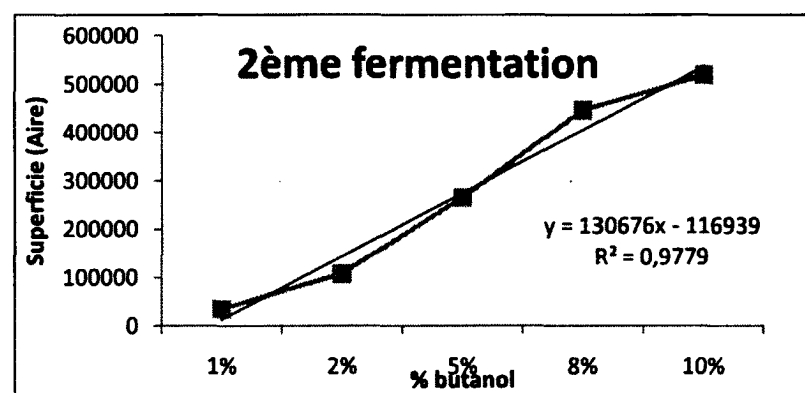
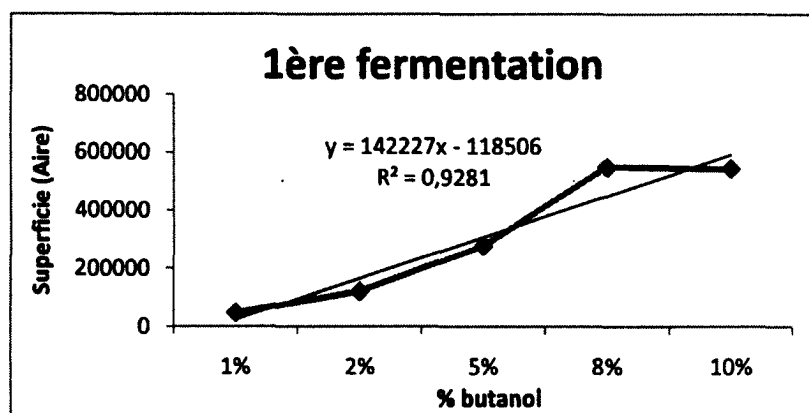
Concentration d'orge en matière sèche	0,5	1	3	5	8
Moyenne	11,145	10,14	7,545	5,805	5,03
Moyenne	3940	4570	7330	10880	16640
Moyenne	1,7	3,25	4,2	11,7	29
Moyenne	63,5	80,5	154	325,5	481
Moyenne	1207,547585	1359,285552	2228,5394	2276,408967	4487,2693

c) Traitement avec les scories

Concentration d'orge en matière sèche	0,5	1	3	5	8
Moyenne	11,525	11,98	11,015	10,08	9,32
Moyenne	2370	4970	9930	12770	20500
Moyenne	2	9	11,375	10,75	9,75
Moyenne	34	38	106,6	173,6	234
Moyenne	831,267871	887,9869839	2178,6586	4313,964613	8075,127426

ANNEXE VI

RESULTATS DU TEST DE FERMENTATION BATCH AVEC LA SOUCHE CLOSTRIDIUM BEIJERINCKII



Courbe d'étalonnage de la fermentation 1 et 2.

Courbe d'étalonnage du butanol			
superficie			
% butanol	1ère fermentation	2ème fermentation	3ème fermentation
1%	47287	35572	28 346
2%	121460	107945	113627
5%	278039	265659	319740
8%	549877	446685	564645
10%	544215	519582	539073

Résultats obtenus de la production du butanol après la fermentation

	Fermentation	Superficie	% butanol
Milieu Conventionnel:	1ère	20838	1,054341
	2ème	41516	1,212579
	3ème	0	0

Résultats obtenus avant et après la fermentation du poids sec de la souche *Clostridium beijerinckii*

	Fermentation 1 De la boue traitée		Fermentation 2 De la boue traitée		Fermentation 3 De l'orge traitée	
	Densité optique (600nm)	Poids (mg/mL)	Densité optique (600nm)	Poids (mg/mL)	Densité optique (600nm)	Poids (mg/mL)
Croissance de la souche <i>C. beijerinckii</i> dans les différents milieux avant la fermentation						
Échantillon (1)	1,70166	0,4	1,47925	1	1,57654	0,9
Échantillon (2)	1,69104	0,8	1,50696	1,8	1,70422	1,1
Croissance de la souche <i>C. beijerinckii</i> dans les différents milieux après la fermentation						
milieu Conventionnel						
(1)	1,49841	0,6	2,68335	1,5	0,80054	0,8
(2)	1,60401	0,8	2,87207	1,9	0,80035	1,5
Milieu traitée avec ajout de glucose (1)	1,77698	0,7	2,04468	1,4	0,98145	0
(2)	1,79944	0,3	1,75256	0,7	0,882	0,3
Milieu traité (1) +glucose+minéraux	1,73499	1,1	2	1,7	1,5	0
(2)	1,56665	1,5	1,7677	1,1	1,49841	0,2

LISTE DE RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- A.Skoog, Douglas, Donald M. West et F. James Holler. 1997. *Chimie analytique*. bruxelles: De Boeck, 870 p.
- Agarwal, Avinash Kumar. 2007. « Biofuels (alcohols and biodiesel) applications as fuels for internal combustion engines ». *Progress in Energy and Combustion Science*, vol. 33, n° 3, p. 233-271.
- Andreottola, Gianni, et Paola Foladori. 2006. « A Review and Assessment of Emerging Technologies for the Minimization of Excess Sludge Production in Wastewater Treatment Plants ». *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, vol. 41, n° 9, p. 1853 - 1872.
- Arnold, Frances H. 2008. « The race for new biofuels ». *Engineering and science*. n° 2, p. 12-19. <<http://pr.caltech.edu/periodicals/EandS/articles/LXXI2/arnold.pdf>>. Consulté le 1 juillet 2010.
- Ayhan, DEMIRBAS. 2004. « Ethanol from cellulosic biomass resources ». *International Journal of green energy*. Vol. 1, n° 1, p. 79-87.
- Ballerini, Daniel. 2006. *Les Biocarburants, état des lieux, perspectives et enjeux du développement*. Paris: Edition Technip, 348 p.
- Beuker. 2009. « Drêche de Brasserie L ». Beuker BVBA. <http://www.beuker.nl/internet_pdf/VAC_4_163.pdf>. Consulté le 1 juillet 2010.
- Bonenfant, Danielle, Lynda Kharoune, Sébastien Sauvé, Robert Hausler, Patrick Niquette, Murielle Mimeault et Mourad Kharoune. 2009. « Molecular analysis of carbon dioxide adsorption processes on steel slag oxides ». *International Journal of Greenhouse Gas Control*, vol. 3, n° 1, p. 20-28.
- Bonenfant, Danielle, Lynda Kharoune, Sébastien Sauvé, Robert Hausler, Patrick Niquette, Murielle Mimeault et Mourad Kharoune. 2008. « CO₂ Sequestration Potential of Steel Slags at Ambient Pressure and Temperature ». *Industrial & Engineering Chemistry Research*, vol. 47, n° 20, p. 7610-7616.
- Borges, E. S. M., et C. A. L. Chernicharo. 2009. « Effect of thermal treatment of anaerobic sludge on the bioavailability and biodegradability characteristics of the organic fraction ». *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, vol. 26, p. 469-480.

- Bowden, Lawrence I., Adam P. Jarvis, Paul L. Younger et Karen L. Johnson. 2009. « Phosphorus Removal from Waste Waters Using Basic Oxygen Steel Slag ». *Environmental Science & Technology*, vol. 43, n° 7, p. 2476-2481.
- Cai, Mulin, Junxin Liu et Yuansong Wei. 2004. « Enhanced Biohydrogen Production from Sewage Sludge with Alkaline Pretreatment ». *Environmental Science & Technology*, vol. 38, n° 11, p. 3195-3202.
- CRAAQ. 2008. « La production d'éthanol à partir de grains de maïs et de céréales ». Canada: Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du québec. <<http://www.craaq.qc.ca/data/DOCUMENTS/EVC029.pdf>>.
- de Lourdes Tirado Montiel, Maria, R. D. Tyagi et J. R. Valero. 2001. « Wastewater treatment sludge as a raw material for the production of bacillus thuringiensis based biopesticides ». *Water Research*, vol. 35, n° 16, p. 3807-3816.
- DuBois, Michel, K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers et Fred Smith. 1956. « Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances ». *Analytical Chemistry*. doi: 10.1021/ac60111a017. Vol. 28, n° 3, p. 350-356. <<http://dx.doi.org/10.1021/ac60111a017>>.
- Dürre, Peter. 2007. « Biobutanol: An attractive biofuel ». *Biotechnology Journal*. Vol. 2, p. 1525-1534.
- Ethanol Information Center. 2000. « Emissions Impact of Ethanol ». In *Canada's Greenfuels Home Page: Renewable fuels*. En ligne. <<http://www.sentex.net/~crfa/emissionsimpact.html>>. Consulté le 15 octobre 2007.
- Everett, J. G. 1974. « The effect of pH on the heat treatment of sewage sludges ». *Water Research*, vol. 8, n° 11, p. 899-906.
- Frédéric Forges. 2007. « Les biocarburants - politique énergétique, environnementale ou agricole? ». Canada:
- Gaëlle Deronzier, Jean - Marc Choubert. 2004. *Traitement du phosphore dans les petites stations d'épurations à boues activées*. FNDAE n°29. Paris, France: Ministère de l'agriculture, de l'Alimentation, de la pêche et des affaires rurales, 24 p. <http://www.fndae.fr/documentation/PDF/Fndae29_a.pdf>.
- Grammont, Vincent. 2006. *Les biocarburants à partir de ressources lignocellulosiques: Présentation des filières et identifications des risques*. Rapport. France: INERIS - Direction de la certification, 30 p.
- Gregg, D., et J. N. Saddler. 1995. « Bioconversion of lignocellulosic residue to ethanol: Process flowsheet development ». *Biomass and Bioenergy*, vol. 9, n° 1-5, p. 287-302.

- Hach. 2009. « Procedure Manual DR 2500 Spectrophotometer ». <http://www.hach.com/fmmimghach?/CODE%3A59000225871%7C1>.
- His, Stéphane. 2005. « Les Biocarburants dans le monde ». Lyon: IFP-Diffusion des connaissances. <http://www.ifp.com/information-publications/notes-de-synthese-panorama/panorama-2005>. Consulté le 25 novembre 2007.
- Initiatives, Transrural. 2004. « La pisciculture, un élevage parmi d'autres? ». *Dossier*, vol. 260, (4 mai 2004), p. 1-8.
- INRA. 2007. « 5 Scénarios pour la pisciculture française en 2021 ». France: Commission Filière Poissons. www.inra.fr/content/download/11645/147830/.../prospectivePISC2021.pdf. Consulté le 7 septembre 2009.
- Johnson, J. L., J. Toth, S. Santiwatanakul et J.-S. Chen. 1997. « Cultures of "Clostridium acetobutylicum" from Various Collections Comprise Clostridium acetobutylicum, Clostridium beijerinckii, and Two Other Distinct Types Based on DNA-DNA Reassociation ». *Int J Syst Bacteriol*, vol. 47, n° 2 (April 1, 1997), p. 420-424.
- Keis, S, R Shaheen et DT Jones. 2001. « Emended descriptions of Clostridium acetobutylicum and Clostridium beijerinckii, and descriptions of Clostridium saccharoperbutylacetonicum sp. nov. and Clostridium saccharobutylicum sp. nov ». *Int J Syst Evol Microbiol*, vol. 51, n° 6 (November 1, 2001), p. 2095-2103.
- Knoshaug, Eric P., et Min Zhang. 2009. « Butanol tolerance in a selection of microorganisms ». *Applied Biochemistry and Biotechnology*, vol. 153, n° 1-3, p. 13-20.
- Kumar, Parveen, Diane M. Barrett, Michael J. Delwiche et Pieter Stroeve. 2009. « Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production ». *Industrial & Engineering Chemistry Research*, vol. 48, n° 8, p. 3713-3729.
- L. Youcef, S. Achour. 2005. « Elimination des phosphates par des procédés physico-chimiques ». *Larhyss Journal*, vol. 4, (juin 2005), p. 129-140.
- Lee, Sang Yup, Jin Hwan Park, Seh Hee Jang, Lars K. Nielsen, Jaehyun Kim et Kwang S. Jung. 2008. « Fermentative butanol production by clostridia ». *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 101, n° 2, p. 209-228.
- Lewis, Don. 1980. *IRON and STEEL SLAG-A NON HAZARD*. National Slag Association. http://www.nationalslag.org/archive/legacy/nsa_194-5_slag_a_non-hazard.pdf. Consulté le 15 novembre 2009.

- Monot, Frederic, Jean-Rene Martin, Henri Petitdemange et Robert Gay. 1982. « Acetone and Butanol Production by Clostridium acetobutylicum in a Synthetic Medium ». *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 44, n° 6 (December 1, 1982), p. 1318-1324.
- Neyens, E., J. Baeyens et C. Creemers. 2003. « Alkaline thermal sludge hydrolysis ». *Journal of Hazardous Materials*, vol. 97, n° 1-4, p. 295-314.
- Neyens, E., J. Baeyens, R. Dewil et B. De heyder. 2004. « Advanced sludge treatment affects extracellular polymeric substances to improve activated sludge dewatering ». *Journal of Hazardous Materials*. doi: DOI: 10.1016/j.jhazmat.2003.11.014. Vol. 106, n° 2-3, p. 83-92. <<http://www.sciencedirect.com/science/article/B6TGF-4BG3T8F-1/2/1524a1238d92497188c95a40e8a3a492>>.
- Ni, Ye, et Zhihao Sun. 2009. « Recent progress on industrial fermentative production of acetone-butanol-ethanol by Clostridium acetobutylicum in China ». *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 83, n° 3, p. 415-423.
- Office de l'Efficacité Énergétique. 2007. « L'éthanol ». In *Ressources naturelles du canada*. <<http://oee.mcan.gc.ca/transports/carburants/ethanol/ethanol.cfm?attr=12>>. Consulté le Consulté en Juin 2009.
- ONE, Office National de l'Energie -. 2008. *Analyse de la demande d'énergie: contextes mondial et canadien*. Coll. « Office national de l'énergie ». <<http://www.neb-one.gc.ca/clf-nsi/rnrgynfmrn/nrgyrprt/nrgdmnd/glblcndncntxt2008/glblcndncntxtnrgbrf-fra.pdf>>. Consulté le 7 juillet 2009.
- Ouellet, Guy. 1998. « Caractérisation des effluents de stations piscicoles québécoises ». Québec: <<http://www.mapaq.gouv.qc.ca/Fr/Pêche/md/Publications/R98-06.htm>>. Consulté le 1 juillet 2009.
- Pêches et Océans, Canada. 2008. « L'aquaculture au Canada ». Ottawa: Direction des Communications. <<http://www.dfo-mpo.gc.ca/aquaculture/ref/aqua-can2008-fra.pdf>>. Consulté le 1 juillet 2009.
- Piedrahita, Raul H. 2003. « Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation ». *Aquaculture*, vol. 226, n° 1-4, p. 35-44.
- Proctor, D. M., K. A. Fehling, E. C. Shay, J. L. Wittenborn, J. J. Green, C. Avent, R. D. Bigham, M. Connolly, B. Lee, T. O. Shepker et M. A. Zak. 2000. « Physical and Chemical Characteristics of Blast Furnace, Basic Oxygen Furnace, and Electric Arc Furnace Steel Industry Slags ». *Environmental Science & Technology*, vol. 34, n° 8, p. 1576-1582.

- Qureshi, Nasib, et Thaddeus C. Ezeji. 2008. « Butanol, 'a superior biofuel' production from agricultural residues (renewable biomass): Recent progress in technology ». *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, vol. 2, n° 4, p. 319-330.
- Qureshi, Nasib, Thaddeus C. Ezeji, Jennifer Ebener, Bruce S. Dien, Michael A. Cotta et Hans P. Blaschek. 2008. « Butanol production by *Clostridium beijerinckii*. Part I: Use of acid and enzyme hydrolyzed corn fiber ». *Bioresource Technology*, vol. 99, n° 13, p. 5915-5922.
- Qureshi, Nasib, Badal C. Saha et Michael A. Cotta. 2007. « Butanol production from wheat straw hydrolysate using *Clostridium beijerinckii* ». *Bioprocess and Biosystems Engineering*, vol. 30, n° 6, p. 419-427.
- Qureshi, Nasib, Badal C. Saha et Michael A. Cotta. 2008. « Butanol production from wheat straw by simultaneous saccharification and fermentation using *Clostridium beijerinckii*: Part II-Fed-batch fermentation ». *Biomass and Bioenergy*, vol. 32, n° 2, p. 176-183.
- Roque d'Orbcastel, Emmanuelle. 2008. « Optimisation de deux systèmes de production piscicole:biotransformation des nutriments et gestion des rejets ». Doctorat de type 5, Domaine aquaculture, Toulouse, Institut National Polytechnique de Toulouse, 144 p. <<http://www.ifremer.fr/doc/2008/these-3893.pdf>>.
- Roque d'Orbcastel, Emmanuelle, Jean-Paul Blancheton, Thierry Boujard, Joël Aubin, Yves Moutounet, Cyrille Przybyla et Alain Belaud. 2008. « Comparison of two methods for evaluating waste of a flow through trout farm ». *Aquaculture*, vol. 274, n° 1, p. 72-79.
- Rosgaard, Lisa, Sven Pedersen et Anne Meyer. 2007. « Comparison of Different Pretreatment Strategies for Enzymatic Hydrolysis of Wheat and Barley Straw ». *Applied Biochemistry and Biotechnology*, vol. 143, n° 3, p. 284-296.
- Ruch, Olivia. 2008. « Face aux enjeux de l'avenir, une agriculture contributive ». France: Passion céréales. <<http://www.passioncereales.fr/pdf/2008-02-19-dossier-presse-passion-cereales-agriculture-contributive-sia-2008.pdf>>. Consulté le 19 février 2008.
- Shi, Caijun. 2004. « Steel Slag---Its Production, Processing, Characteristics, and Cementitious Properties ». *Journal of Materials in Civil Engineering*, vol. 16, n° 3, p. 230-236.
- Srivastava, S. K., V. K. Gupta et Dinesh Mohan. 1997. « Removal of Lead and Chromium by Activated Slag---A Blast-Furnace Waste ». *Journal of Environmental Engineering*, vol. 123, n° 5, p. 461-468.

- Sun, Ye, et Jiayang Cheng. 2002. « Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review ». *Bioresource Technology*, vol. 83, n° 1, p. 1-11.
- Suzanne Lavoie, Michel. C. Nolin, Jean-Louis Sasseville. 1994. *Classifications des terres agricoles selon leurs aptitudes physiques à recevoir des engrais de ferme à l'aide d'un système expert*. 374. Québec, Canada: INRS-Eau, université du québec et Consultants BPR, 145 p. <<http://ete.inrs.ca/pub/rapports/R000374v4.pdf>>.
- Syed, Miss Quratulain. 1994. « Biochemical studies on anaerobic fermentation of molasses by *Clostridium acetobutylicum* ». Pakistan, Punjab, 215 p.
- Thiebaud, Sophie. 1995. « Valorisation Chimique de composés lignocellulosiques: Obtention de nouveaux matériaux ». Toulouse, Institut national Polytechniques de Toulouse, 194 p.
- Tyagi, Rajeshwar Dayal. 2005. « Producing Bt biopesticides from wastewater sludge ». *Industrial Bioprocessing*, vol. 27, n° 5, p. 9.
- Valo, Alexandre, Hélène Carrère et Jean Philippe Delgenès. 2004. « Thermal, chemical and thermo-chemical pre-treatment of waste activated sludge for anaerobic digestion ». *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, vol. 79, n° 11, p. 1197-1203.
- Woods, David T. Jones and David R. 1986. « Acetone-Butanol Fermentation Revisited ». *MICROBIOLOGICAL REVIEWS*, vol. 50, n° 4, p. 484-524.
- Wyman, Charles E. 1999. « Biomass Ethanol: Technical Progress, Opportunities, and Commercial Challenges ». *Annu. Rev. Energy Environ.* En ligne. Vol. 24 (4 février 2009), p. 189-226.
- Xue, Yongjie, Haobo Hou et Shujing Zhu. 2009. « Characteristics and mechanisms of phosphate adsorption onto basic oxygen furnace slag ». *Journal of Hazardous Materials*, vol. 162, n° 2-3, p. 973-980.
- Yamada, Hisashi, Mitsu Kayama, Kazuo Saito et Masakazu Hara. 1986. « A fundamental research on phosphate removal by using slag ». *Water Research*, vol. 20, n° 5, p. 547-557.
- Yang, David Ramey et Shang-Tian. 2004. *Production of Butyric Acid and Butanol from Biomass*. En ligne. DE-F-G02-00ER86106. Ohio: U.S. Department of Energy, 103 p. <<http://www.osti.gov/bridge/purl.cover.jsp?purl=/843183-rqlY2a/>>. Consulté le 6 novembre 2007.
- Yezza, Abdessalem, Rajeshwar D. Tyagi, Jose R. Valero et Rao Y. Surampalli. 2005. « Wastewater sludge pre-treatment for enhancing entomotoxicity produced by *Bacillus*

thuringiensis var. kurstaki ». *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 21, n° 6-7, p. 1165-1174.

Ziemkiewicz, P. 1998. « Steel Slag: Applications for AMD Control ». In *Proceedings of the 1998 Conference on Hazardous Waste Research* (Snow Bird, Utah, May 19-21, 1998). p. 44-62. USA. <<http://www.p2pays.org/ref/15/14703.pdf>>.

Zverlov, V. V., O. Berezina, G. A. Velikodvorskaya et W. H. Schwarz. 2006. « Bacterial acetone and butanol production by industrial fermentation in the Soviet Union: Use of hydrolyzed agricultural waste for biorefinery ». *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 71, n° 5, p. 587-597.